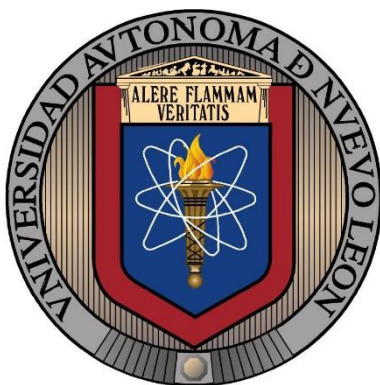


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



TESIS

**DESARROLLO DE ALGORITMOS MATEMÁTICOS PARA DETECTAR LA
PRESENCIA DE BACTERIAS, HONGOS Y PLAGAS, UTILIZANDO SISTEMAS DE
PROCESAMIENTO DE IMÁGENES**

PRESENTA

UZIEL FRANCISCO GRAJEDA GONZÁLEZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

OCTUBRE, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



TESIS

**DESARROLLO DE ALGORITMOS MATEMÁTICOS PARA DETECTAR LA
PRESENCIA DE BACTERIAS, HONGOS Y PLAGAS, UTILIZANDO SISTEMAS DE
PROCESAMIENTO DE IMÁGENES**

PRESENTA

UZIEL FRANCISCO GRAJEDA GONZÁLEZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

General Escobedo, Nuevo León, México

Octubre de 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



TESIS

**DESARROLLO DE ALGORITMOS MATEMÁTICOS PARA DETECTAR LA
PRESENCIA DE BACTERIAS, HONGOS Y PLAGAS, UTILIZANDO SISTEMAS DE
PROCESAMIENTO DE IMÁGENES**

PRESENTA

UZIEL FRANCISCO GRAJEDA GONZÁLEZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR
COMO REQUISTO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

COMITÉ PARTICULAR

Ph. D. Alejandro Isabel Luna Maldonado
Director de tesis

Dr. Ernesto Alonso Contreras Salazar
Co-Director de tesis

Ph. D. Juan Antonio Vidales Contreras
Asesor

Dr. Humberto Rodríguez Fuentes
Asesor

Dra. Juana Aranda Ruiz
Asesora

Dra. Adriana Gutiérrez Díez
Subdirectora de Estudios de Posgrado e Investigación

DEDICATORIA

A mis padres María Guadalupe González Meza y Lamberto Grajeda Barreras.

A mi esposa e hija, Claudia María Durán Olivas y Ana Sofía Grajeda Durán.

A mi hermana Krisna Ebia Grajeda González.

Quienes desde el fondo de sus corazones siempre me impulsaron incondicionalmente para alcanzar esta meta.

¡Los amo!

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi sincero agradecimiento a mi Director de Tesis, Ph.D. Alejandro Isabel Luna Maldonado, por el apoyo continuo en mis estudios de doctorado y en el proyecto de investigación, por su paciencia, motivación y conocimiento inmenso. Su orientación me ayudó en todo el proceso de mi investigación y en la redacción de esta tesis. No podría haber imaginado tener un mejor asesor y mentor para mi estudio de doctorado. Por su apoyo y gestiones realicé un curso sobre Fábrica de Plantas en la Universidad de Chiba, Japón, así como una estancia Doctoral en la Universidad de Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá.

Al Dr. Cs. Ernesto Contreras Salazar, agradezco el que siempre me motivo en momentos difíciles durante mis estudios y en la revisión de la tesis.

Al Dr. Cs. Humberto Rodríguez Fuentes y al Ph.D. Juan Antonio Vidales Contreras les agradezco sus comentarios perspicaces y aliento, pero también por la crítica constructiva que me incentivó a ampliar mi investigación desde varias perspectivas.

También agradezco al Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño y a la Dra. Juana Aranda Ruiz, por apoyarme en los ensayos microbiológicos, así como proporcionarme asesoría y material biológico para contaminar con *Salmonella* mis muestras de tomate.

Mi sincero agradecimiento también es para el Ph.D. Jitendra Paliwal, quien me brindó la oportunidad de unirme a su equipo y laboratorio de procesamiento de imágenes para la realización parcial de mi tesis en la Universidad de Manitoba, Canadá.

Agradezco al Ph. D. Alejandro Sergio del Bosque González, Director de la Facultad de Agronomía, ya que por su apoyo, excelente gestión y administración pude asistir a un congreso nacional, un curso taller en la Universidad de Chiba, Japón, así como la publicación de un capítulo de libro y tres artículos.

Agradezco al Consejo Nacional para la Ciencia y la Tecnología de mi país, por la beca que me otorgó para mis estudios de doctorado.

Finalmente, agradezco a la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por permitirme formarme bajo su techo. Mi estancia allí se hizo agradable en gran parte debido a que hice muchos amigos que se convirtieron en parte de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CUADROS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
RESUMEN	xviii
CAPÍTULO 1. ALGORITMOS MATEMÁTICOS PARA EL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Revisión de literatura	6
1.2.1. Detección de <i>Salmonella typhimurium</i> utilizando un sistema de imágenes hiperespectrales.	6
1.3. Materiales y métodos	7
1.3.1. Material biotecnológico.	7
1.3.2. Muestras de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	8
1.3.3. Hipercubo de tomate contaminado	8
1.3.3.1. Sistema hiperespectral	8
1.3.3.2. Inoculación de muestra.....	9
1.3.3.3. Pre-procesamiento y preparación de datos	10
1.3.3.4. Normalización.....	10
1.3.3.5. Recorte espacial y espectral.....	11
1.3.3.6. Suavizado del espectro	12

1.3.3.7. Obtención de los modelos de firmas espectrales.	12
1.3.3.8. Calculando el área bajo la curva y análisis estadístico.....	14
1.4. Resultados y discusión.....	14
1.4.1. Resultados con el modelo de Gauss	14
1.4.2. Áreas bajo las curvas y sus análisis	17
1.5. Conclusiones y recomendaciones.....	18
1.6. Referencias	19
CAPÍTULO 2. DETECCIÓN DE <i>Salmonella typhimurium</i> EN TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i>) UTILIZANDO ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES E IMÁGENES HIPERESPECTRALES EN EL ESPECTRO VISIBLE E INFRARROJO CERCANO (400 – 1000 nm)	23
2.1. Introducción.....	23
2.2. Revisión de literatura	25
2.2.1. Imágenes hiperespectrales.....	27
2.2.2. Fundamento de las imágenes hiperespectrales	28
2.2.3. <i>Salmonella</i> spp.	30
2.2.4. <i>Salmonella typhimurium</i>	31
2.2.5. Métodos de detección de <i>Salmonella</i>	32
2.2.6. Espectro electromagnético	34
2.2.7. Interacción de la luz con las muestras	35
2.2.8. Sistemas radiométricos y fotométricos	36
2.2.8.1. Fotometría	36

2.2.8.2. Comparación entre unidades radiométricas y fotométricas en aplicaciones Biológicas	36
2.2.9. Sistemas de imágenes hiperespectrales	38
2.2.10. Espectroscopía	38
2.2.11. Espectroscopio	39
2.2.12. Firma espectral.....	41
2.3. Materiales y métodos	42
2.3.1. Material biológico.....	42
2.3.1.1. <i>Salmonella typhimurium</i>	42
2.3.1.2. Muestras de tomate	42
2.3.2. Material para identificación del género <i>Salmonella</i>	43
2.3.2.1. Medios para el aislamiento selectivo	43
2.3.2.2. Configuración del sistema	43
2.3.3. Desarrollo del experimento	44
2.3.3.1. Inoculación de tomate con <i>Salmonella typhimurium</i>	45
2.3.3.2. Adquisición de imágenes hiperespectrales con MATLAB.....	46
2.3.3.3. Creación de la firma espectral.	48
2.3.4. Análisis de componentes principales	49
2.3.5. Estructura	51
2.3.5.1. Motor de Corriente Alterna	51
2.3.5.2. Variador de frecuencia.....	51
2.3.6. Estructura mecánica	52
2.3.7. Iluminación.....	53
2.3.8. Cámara hiperespectral.....	54

2.4. Resultados y discusión	55
2.4.1. Firma hiperespectral.	55
2.4.2. Hipercubo.	57
2.4.3. Análisis de componentes principales en la detección de <i>Salmonella typhimurium</i> en tomate	59
2.5. Conclusiones y recomendaciones.....	63
2.6. Referencias.....	65
CAPÍTULO 3. PLATAFORMA ROTATORIA PARA OBTENER LA SUPERFICIE TOTAL DEL EXOCARPO DE FRUTOS DE TOMATE CON IMÁGENES HIPERESPECTRALES	70
3.1. Introducción.....	70
3.2. Revisión de literatura.	72
3.2.1. Morfología del tomate.	72
3.2.2. Procesamiento de imágenes 2D.....	72
3.2.3. Sistemas de imágenes hiperespectrales	73
3.2.4. Algoritmos de reconstrucción de objetos	73
3.3. Materiales y métodos	74
3.3.1. Material vegetal	74
3.3.2. Mecanismo para girar tomate.	75
3.3.3. Material electrónico.....	75
3.3.4. Adquisición del hipercubo.	76
3.3.5. Hipercubo de datos.....	77
3.4. Resultados y Discusión.....	78
3.5. Conclusiones y recomendaciones.....	78

3.6. Referencias	79
CAPÍTULO 4. DETECCIÓN DE <i>Fusarium graminearum</i> EN ESPIGAS DE TRIGO (<i>Triticum spp.</i>) CON TECNOLOGÍA DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES EN EL RANGO VISIBLE (400 – 700 nm) E INFRARROJO CERCANO (700 – 1000 nm)....	82
4.1. Introducción.....	82
4.2. Revisión de literatura	83
4.3. Materiales y métodos	84
4.3.1. Cámara hiperespectral Specim FX10	84
4.3.2. Sistema de iluminación	84
4.3.3. Muestras de trigo	84
4.3.4. Generación de los hipercubos	85
4.3.5. Pre-procesado de los hipercubos	85
4.3.6. Obtención de secciones del espectro	87
4.3.7. Software para análisis de imágenes hiperespectrales	87
4.3.8. Obtención de secciones espaciales.....	87
4.3.9. Agrupamiento de bandas espectrales.....	88
4.3.10. Suavizado de la firma espectral y transformación de variante normal estándar... ..	88
4.3.11. Análisis de datos y algoritmos propuestos.....	89
4.3.11.1. Análisis de componentes principales.....	89
4.3.11.2. Mapeador de Ángulo Espectral	91
4.3.11.3. Detección de presencia de <i>Fusarium graminearum</i> por inspección visual	91
4.4. Resultados y discusión	93

4.4.1. Mapeador de ángulo espectral para la detección de <i>Fusarium</i> graminearum.....	94
4.4.2. Cuantificación de zonas afectadas por <i>Fusarium graminearum</i>	95
4.5. Conclusiones y recomendaciones.....	97
4.6. Referencias.....	99
CAPÍTULO 5. CONTEO DIGITAL Y DISPERSIÓN ESPACIAL DEL PULGÓN (<i>Melanaphis saccar</i>) DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN HOJAS DE SORGO	102
5.1. Introducción.....	102
5.2. Revisión de literatura	105
5.3. Materiales y métodos	106
5.3.1. Inspección visual por humanos.....	106
5.3.2. Adquisición de imágenes	106
5.3.3. Análisis de las imágenes	107
5.3.4. Índice de dispersión	111
5.3.5. Índice del vecino más cercano.....	112
5.4. Resultados y discusión	114
5.5. Conclusiones y recomendaciones.....	119
5.6. Referencias.....	120
APÉNDICES.....	126

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Resultados de los modelos de ajuste, cada valor es el resultado de los medios de ajuste de cada dosis.	15
Cuadro 1.2. Resultados de análisis de varianza de factor único, tomando área bajo la curva para el análisis de datos.	18
Cuadro 2.1. Unidades del sistema internacional utilizadas en radiometría.	37
Cuadro 2.2. Unidades utilizadas en fotometría.	38
Cuadro 2.3. Periodos para la toma de las imágenes hiperespectrales.	48
Cuadro 4.1. Cuantificación de daño por inspección visual.	95
Cuadro 4.2. Comparación del daño a espiga de trigo evaluado con análisis de componentes principales y mapeador de ángulo espectral.	98
Cuadro 4.3. Resultados obtenidos por otros investigadores del porcentaje de error de detección de <i>Fusarium</i> en espigas y semillas de trigo.	100
Cuadro 5.1. Resultados de coordenadas del pulgón amarillo y distancia del vecino más cercano por ImageJ.	120

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Hipercubos de tomates mostrados en una longitud de onda de 692 nm, en cada tomate se dibujó cuatro zonas cuadradas, para dosificar con 0, 5, 10, 15 μ L de <i>Salmonella typhimurium</i>	9
Figura 1.2. Flujo de trabajo del algoritmo propuesto para la detección de patógenos, utilizando el área bajo la curva.	11
Figura 1.3. Firmas espectrales de 80 píxeles extraídos de 20 frutos de tomates, se seleccionó una región de interés en cada zona contaminada.	13
Figura 1.4. El gráfico superior muestra un ejemplo de espectro suavizado (azul) y el modelo predictivo (rojo), el gráfico inferior muestra un comportamiento aleatorio en los residuos, lo que significa una buena predicción.	16
Figura 1.5. Áreas totales bajo la curva de 20 frutos de tomate.	17
Figura 2.1. Esquema general de un sistema de procesamiento de imágenes hiperespectrales. Fuente: He y Sun, 2015.	30
Figura 2.2. Biosensor electromagnético y sensor de control. Fuente: Li <i>et al.</i> , 2010.	33
Figura 2.3. Espectro electromagnético. Fuente: Atkins y Jones, 2012.	34
Figura 2.4. Elementos básicos de un espectrógrafo de procesamiento de imágenes con la óptica de entrada y generación del cubo de datos 3D: espacio coordinado (x , y) y las dimensiones espectrales. Fuente: Engineering Exchange, 2018.	41
Figura 2.5. Imagen mostrada por el software visor Vimba.	44
Figura 2.6. Esquema de la propuesta del experimento para la inoculación de la bacteria sobre la superficie de un tomate.	45
Figura 2.7. a) Tomate que presenta área la cual será estudiada, b) extracción de diez μ L de <i>Salmonella typhimurium</i> , c) distribución de una gota en la superficie con ayuda de la puntilla de la micropipeta.	46
Figura 2.8. Diagrama de flujo del programa para la adquisición de imágenes.	47
Figura 2.9. Diagrama de flujo para la creación de la firma espectral.	49
Figura 2.10. Variador de frecuencia GS1, para controlar velocidad de motor.	52

Figura 2.11. Estructura del sistema de imágenes hiperespectrales.	53
Figura 2.12. Lámpara tungsteno – halógeno.	53
Figura 2.13. Montaje de la cámara y el sistema de iluminación.	54
Figura 2.14. Firma hiperespectral de un tomate sin contaminar con coordenadas: Píxel1 (829, 311), Píxel2 (834, 316), Píxel3 (824, 306), Píxel4 (839, 354).	56
Figura 2.15. Firma hiperespectral de un tomate contaminado, donde el % de reflexión decreció en la zona contaminada.	58
Figura 2.16. Fotogramas en longitudes de onda específica.	59
Figura 2.17. Análisis de componentes principales aplicado a tomate no contaminado.	61
Figura 2.18. La componente 1 (PC 1) tiene agrupados a la mayoría de los datos, mientras que la componente 2 (PC 2) tiene poca participación.	62
Figura 2.19. Análisis de componentes principales aplicado a tomate contaminado.	63
Figura 2.20. La componente principal dos (PC 2) tiene mayor concentración de datos.	64
Figura 3.1. a) parte frontal, b) parte posterior.	76
Figura 3.2. Sistema para rotar frutos de tomate.	76
Figura 3.3. Propuesta de mecanismo giratorio de un tomate.	77
Figura 3.4. Superficie generada con el sistema hiperespectral.	79
Figura 4.1. Sistema de imágenes hiperespectrales, rango visible (400 – 1000 nm). Equipo perteneciente al Laboratorio de Imagenología de la Universidad de Manitoba.	88
Figura 4.2. a) Firma de 20 píxeles dentro de las zonas de trigo, b) firmas espectrales suavizadas y con media 0.	91
Figura 4.3. Zonas del Lote A, marcadas en rojo, donde se encuentra daño por <i>Fusarium graminearum</i>	94
Figura 4.4. Análisis de componentes principales, donde la componente principal 2 aparece en color rojo, indicando las zonas dañadas por <i>Fusarium graminearum</i>	96
Figura 4.5. Umbralización y binarización de los píxeles con $\alpha < 0.05$	98
Figura 5.1. Toma de las imágenes.	111

Figura 5.2. Imagen original de hojas con pulgón amarillo (a), umbral de la imagen (b).	112
Figura 5.3. Proceso de filtrado con la transformada rápida de Fourier (a), Inversión de la imagen (b).	113
Figura 5.4. Imagen obtenida después del análisis del pulgón amarillo.....	113
Figura 5.5. Patrón de dispersión en 27 cuadrantes del pulgón amarillo.	114
Figura 5.6. Perfil trazado en el ancho de la hoja de sorgo (línea horizontal amarilla).	118
Figura 5.7. Número de pulgones amarillos por cada 4 cm ² sub-cuadrante.	121
Figura 5.8. Centroide del pulgón amarillo.	121

RESUMEN

A nivel mundial, la preocupación por la seguridad alimentaria se ha convertido en un tema de gran relevancia. En respuesta a esta demanda han emergido los sistemas de procesamiento de imágenes hiperespectrales para la rápida detección de agentes peligrosos en los alimentos. Por lo anterior, este proyecto de investigación se desarrolló un nuevo algoritmo que conjuntamente se utilizó con una cámara hiperespectral PIKE F-210B, un espectrógrafo ImSpector V10E y un sistema de iluminación halógeno-tungsteno sin regulador para la detección con procesamiento de imágenes hiperespectrales de la bacteria *Salmonella typhimurium* en superficies de tomate dentro del rango espectral de 400–1000 nm. También, se generaron modelos Gaussianos para obtener áreas bajo la curva con integrales definidas, la cual proporciona un enfoque cuantitativo de cada una de las firmas espectrales. Entre la metodología utilizada se incluyó la aplicación de tres dosis (5, 10 y 15 μL) y una respuesta de control (0 μL) en la superficie de 20 frutos de tomate. Posteriormente, se observó que algunas firmas espectrales disminuyeron su amplitud máxima en las dosis más altas de *Salmonella*; además, esas firmas espectrales mostraron los valores numéricos más bajos. Y el análisis de varianza de un solo factor no mostró significancia debido a las dosis; sin embargo, se concluyó que el algoritmo proporciona una buena metodología para la detección de éste patógeno. En una segunda investigación se

inocularon tres zonas de la superficie de tomate con dosis (5, 10 y 15 μL). y de las imágenes hiperespectrales obtenidas se realizó un análisis de componentes principales, donde la componente principal 1 agrupó el 99% de las firmas espectrales. El desempeño del sistema de adquisición y procesamiento de imágenes hiperespectrales fue de 650 fotogramas en 5 minutos, confirmando la presencia de la bacteria. En una tercera investigación se desarrolló una plataforma giratoria y un algoritmo para que el sistema de imágenes hiperespectrales pudiera escanear y reconstruir todo el exocarpo de un fruto de tomate. El mecanismo de rotación y el algoritmo desarrollado pueden ser utilizados para futuras investigaciones dirigidas a la cuantificación del porcentaje total de daño por bacterias en la superficie del exocarpo de frutos de tomate.

En un cuarto experimento acerca de las aplicaciones del procesamiento de imágenes hiperespectrales para identificar enfermedades, se eligió a *Fusarium graminearum* ya que tanto en México como en Canadá afecta la producción del cultivo de trigo. El hongo *Fusarium* provoca pérdidas económicas en ese cultivo y daños a la salud de las personas y animales, porque genera metabolitos secundarios conocidos como micotoxinas, dentro de las cuales la más mortífera es conocida como deoxinivalenol (DON). Actualmente, la detección del daño provocado por esta enfermedad es realizada de manera visual, y conlleva grandes desventajas debido a la naturaleza humana (fatiga durante la inspección, clasificaciones erróneas, tiempos elevados para grandes muestras). Como alternativa, los sistemas de imágenes hiperespectrales, en el espectro visible, surgen como una herramienta para solventar los problemas anteriores. En esta investigación se detectó éste patógeno sobre espigas de trigo sin

trillar mediante el uso de análisis de componentes principales, así como el algoritmo conocido como mapeador de ángulo espectral y utilizando un sistema de procesamiento de imágenes hiperespectrales (cámara y un sistema de iluminación con regulador, Specim FX10). El error de clasificación fue menor al 10% para análisis de componentes principales, y 8.6% para el mapeador de ángulo espectral.

En el quinto estudio de investigación se desarrolló un sistema de adquisición y procesamiento de imágenes para el conteo y la medición de la dispersión de áfidos de la caña de azúcar también conocidos como pulgones amarillos del sorgo. La infestación y la dispersión del pulgón amarillo causaron daños de entre el 30 y el 100% en la cosecha de sorgo en México. La infestación y la dispersión de este áfido están siendo cuantificadas por personas de manera visual; sin embargo, lleva un tiempo considerable y es una tarea tediosa, por lo cual, se realizó un algoritmo y un código que se ejecutó en la plataforma Imagen J para contar a las ninfas y adultos del pulgón amarillo en imágenes tomadas por un teléfono inteligente. El resultado obtenido con el programa de computadora fue de 267 pulgones en una hoja de sorgo, que fue la misma cantidad contada por la inspección visual de una persona. Además, el índice del vecino más cercano (0.3588) mostró un grado significativo de agrupamiento de los áfidos. Debido a la rápida propagación y reproducción de la plaga en diferentes áreas de México, es esencial utilizar tecnologías como la adquisición y el procesamiento de imágenes, así como la máquina de visión para ayudar a monitorear y acelerar el proceso de conteo. También es muy importante considerar en futuras investigaciones la liberación de una cantidad adecuada de insectos beneficiosos, como el *Coccinellidae*, debido a que pueden controlar la población del pulgón amarillo en el

cultivo de sorgo, así como también el uso del procesamiento de imágenes hiperespectrales.

Palabras clave: Sistemas de procesamiento de imágenes, *Salmonella*, tomate, hiperespectral cámara, *Fusarium*, trigo, pulgón amarillo, sorgo.

SUMMARY

Worldwide, concern for food security has become a major issue. In response to this demand, hyperspectral imaging systems for the rapid detection of pathogens in food have emerged. Therefore, this research project developed a new algorithm that was jointly used with a hyperspectral camera PIKE F-210B, an ImSpector V10E spectrograph and a halogen-tungsten lighting system without a regulator and using hyperspectral imaging for detection of the *Salmonella* typhimurium bacteria on tomato surfaces within the spectral range of 400-1000 nm. Also, Gaussian models were generated to obtain areas under the curve with definite integrals, which provides a quantitative approach for each of the spectral signatures. Among the methodology used was the application of three doses (5, 10 and 15 μL) and a control response (0 μL) on the surface of 20 tomato fruits. Subsequently, it was observed that some spectral signatures decreased their maximum amplitude in the highest doses of *Salmonella*; In addition, these spectral signatures showed the lowest numerical values. And the analysis of variance of a single factor did not show significance due to the doses; however, it was concluded that the algorithm provides a good methodology for the detection of this pathogen. In a second research, three areas of the tomato surface were inoculated with doses (5, 10 and 15 μL). and from the hyperspectral images obtained, a principal components analysis was performed, where the main component 1 grouped 99% of the spectral signatures. The performance of the hyperspectral image

acquisition and processing system was 650 frames in 5 minutes, confirming the presence of the bacteria. In a third investigation, a revolving platform and an algorithm were developed so that the hyperspectral imaging system could scan and reconstruct the entire exocarp of a tomato fruit. The mechanism of rotation and the algorithm developed can be used for future research aimed at quantifying the total percentage of damage by bacteria on the surface of the exocarp of tomato fruits.

In a fourth experiment about the applications of hyperspectral image processing to identify diseases, *Fusarium graminearum* was selected since both in Mexico and in Canada it affects the production of the wheat crop. The fungus *Fusarium* causes economic losses in that crop and damages the health of people and animals, because it generates secondary metabolites known as mycotoxins, among which the deadliest is known as deoxynivalenol (DON). Currently, the detection of damage caused by this disease is performed visually, and involves great disadvantages due to human nature (fatigue during inspection, erroneous classifications, high times for large samples). As an alternative, hyperspectral imaging systems, in the visible spectrum, emerge as a tool to solve the above problems. In this research, this pathogen was detected on unthreshed wheat spikes through the use of principal component analysis, as well as the algorithm known as a spectral angle mapper and using a hyperspectral image processing system (camera and a lighting system with a regulator, Specim FX10). The classification error was less than 10% for principal component analysis, and 8.6% for the spectral angle mapper.

In the fifth research study, an image acquisition and processing system was developed for counting and measuring the dispersion of sugarcane aphids also known as yellow

sorghum aphids. The yellow aphid infestation and dispersion caused between 30 and 100% damage in the sorghum crop in Mexico. The infestation and dispersal of this aphid are being quantified by people in a visual way; However, it takes a considerable time and is a tedious task, so, an algorithm and a code was executed on the Image J platform to tell the nymphs and adults of the yellow aphid in images taken by a smartphone. The result obtained with the computer program was 267 aphids on a leaf of sorghum, which was the same amount counted by the visual inspection of a person. In addition, the nearest neighbor index (0.3588) showed a significant degree of grouping of aphids. Due to the rapid spread and reproduction of the pest in different areas of Mexico, it is essential to use technologies such as the acquisition and processing of images, as well as the vision machine to assist monitoring and rapid counting process. It is also very important to consider in future research the release of an adequate amount of beneficial insects, such as Coccinellidae, because they can control the yellow aphid population in sorghum culture, as well as the use of hyperspectral image processing.

Keywords: Image processing system, *Salmonella*, tomato, hyperspectral camera, *Fusarium*, wheat, sugarcane aphid, sorghum.

CAPÍTULO 1. ALGORITMOS MATEMÁTICOS PARA EL PROCESAMIENTO DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES

1.1. Introducción

La tecnología de imagen hiperespectral ha sido bien desarrollada en diferentes áreas de la industria, como la minería, la evaluación de calidad en los procesos alimentarios, la detección de enfermedades que afectan cultivos y frutas (Wu y Sun, 2013), además, con la actual reducción de costos en sensores y circuitos electrónicos, ha permitido la inmersión gradual de sistemas de imágenes hiperespectrales en distintos campos. El aprendizaje supervisado se caracteriza por la necesidad de conocer las respuestas esperadas basadas en el conocimiento humano o las características del sistema, estas se conocen como función objetivo, luego el sistema compara las entradas o el conjunto de píxeles. En esta función, al proceso de comparación y prueba de entradas con respuestas esperadas se le llama aprendizaje, el cual finaliza cuando el algoritmo tiene un nivel aceptable de rendimiento. El aprendizaje supervisado se puede agrupar en dos enfoques, clasificación y regresión (Zhu, 2006).

En el enfoque de clasificación los datos deben agruparse en categorías, por ejemplo "infectados", "no infectados", "dañados", "no dañados", "maduros".

Por otro lado, en el enfoque de regresión los datos se tratan como una función continua que se puede modelar con funciones matemáticas que predicen el comportamiento. Algunos ejemplos de algoritmos de aprendizaje automático supervisado son: a) regresión lineal, b) máquina de soporte vector y c) red neuronal supervisada (Akinsola, 2017).

En cambio, los procesos no supervisados intentan modelar la distribución de los datos, y así obtener resultados que permitan predecir fenómenos. Este tipo de algoritmo agrupa características similares a lo largo de los datos en sí mismos, sin la ayuda del conocimiento esperado (David y Shwartz, 2014). Los procesos no supervisados son el agrupamiento y la asociación.

Agrupamiento: en este tipo de análisis, el resultado son grupos de datos que comparten características asociadas con ciertas tendencias, por ejemplo, la economía de un país con respecto al nivel de educación de su población.

Asociación: en este tipo de análisis, desea encontrar reglas que describan una gran parte de los datos, como "las personas que compran X también tienden a comprar Y".

Algunos ejemplos de estos algoritmos de aprendizaje no supervisados son: a) análisis de componentes principales, b) regresión de mínimos cuadrados parciales, c) análisis discriminante de Fisher, d) agrupamiento de medias-k y e) Red neuronal no supervisada.

Elegir una de estas metodologías depende de las condiciones del experimento, es decir, si en el experimento existe la posibilidad de calibrar el algoritmo con una respuesta esperada. Por ejemplo, si un experto es capaz de detectar áreas dañadas en un cultivo, antes de comenzar la investigación, esta información podría generar la función objetivo, y puede usarse para entrenar el algoritmo (Zhang y Rajapakse, 2008). Además, los datos proporcionados por los hipercubos generalmente se analizan mediante enfoques estadísticos de reconocimiento de patrones en el espacio tridimensional, estos análisis pueden ser desde simples hasta muy complejos. Una forma adicional de obtener información relevante de los datos espectrales es analizar su forma con ajuste de curvas. Además, la metodología de ajuste de curva hiperespectral tiene la ventaja de modelar múltiples traslapes de la absorción, la transmitancia y la reflectancia, con menos bandas (Brown, 2006).

Además, ondeletas (wavelet en inglés) es otra técnica que ha impactado en el camino al análisis de datos hiperespectrales. Debido a su aplicación en campos como procesamiento de señales e imágenes, reconocimiento de patrones y compresión de datos, la transformación de ondeletas ha sido una alternativa para el análisis de datos y la reducción de dimensiones (Hsu, 2007). La idea principal del procesamiento con la transformación de ondeletas consiste en descomponer una señal en una serie de sub-representaciones, desplazada y escalada de la función ondeleta madre. Esta descomposición proporciona un marco jerárquico para interpretar la información espectral y algunos investigadores han utilizado la transformación de ondeleta para la extracción de características, por ejemplo, para la clasificación de áreas de salud y daño en hojas (Hsu, *et al.*, 2002). Además, Gupta y Jacobson (2006) estudiaron la

combinación entre análisis de componentes principales y el coeficiente ondeleta para mejorar la reducción de la dimensión y también pudieron destacar las pequeñas variaciones contenidas en la información espacial. Otra aplicación interesante realizada con ondeletas fue la fusión entre datos hiperespectrales y multiespectrales (Gomez *et al.*, 2017), donde la imagen de fusión probó tener información mucho más relevante, debido a que las ondeletas podrían considerarse filtros de paso bajo y alta frecuencia, que permiten separar la información que no se encuentra a simple vista.

Varias investigadores han trabajado con adaptación de modelado y acercamiento de ondeletas, entre los que se encuentran Wang *et al.* (2012), que investigaron la detección de anomalías en un cubo de datos de prueba tomado de una parte del Aeropuerto Internacional de San Diego, en esta investigación propusieron usar un algoritmo de Gauss-Markov para detectar y clasificar parámetros estadísticos dentro de los datos, es decir, matriz de covarianza, como resultado mostraron dos imágenes binarias con 100% de detección de objetivos. Malenovský *et al.* (2006) desarrollaron un nuevo algoritmo basado en el índice de contenido total de clorofila, además, propusieron un nuevo índice llamado área bajo la curva normalizada a la profundidad máxima de banda entre 650-725 nm, donde como paso preliminar calcularon el área bajo la curva de reflectancia eliminada en el rango de 650-725 nm y obtuvieron que el uso del área bajo la curva dividida por una profundidad máxima de banda calculó el contenido de clorofila con buena precisión. Es importante mencionar que a pesar de que la mayoría de los equipos actuales operan entre 400 y 2500 nm (visible y cercano al infrarrojo) se deben seleccionar correctamente las bandas que contienen los datos en donde están ubicadas las áreas de interés. Existen además, numerosos trabajos

que se centran en algoritmos para la selección de bandas (Chang y Wang, 2006; Li *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2011). Además, Peng y Lu (2008) compararon diferentes modelos matemáticos para describir los datos de dispersión hiperespectral con el fin de predecir la firmeza de la fruta y el contenido de sólidos solubles totales de las manzanas Golden Delicious, en el cual el modelo utilizado en la investigación fue la función de distribución de *Lorentz*, que proporcionó un ajuste con un alto coeficiente de correlación promedio (r) positivo y mayor de 0.995; debido a la forma ovalada de las manzanas fue necesario calcular la integral de la reflectancia de medición en función de la cobertura del área cubierta por la lente de la cámara y la intensidad de reflectancia, sobre el ángulo de aceptación. Peng y Lu (2008) concluyeron que los datos ajustados a un modelo de distribución de *Lorentz*, en conjunto con la comparación entre la dureza de las manzanas y el contenido de sólidos solubles, usando regresión multi-lineal y validación cruzada, mostraron una buena predicción de dureza con $r=0.894$ y un error estándar predictivo de 6.14 N, además, solo se necesitaron 23 longitudes de onda para obtener la mejor predicción de la dureza de las frutas y contenido de sólidos solubles.

1.2. Revisión de literatura

1.2.1. Detección de *Salmonella typhimurium* utilizando un sistema de imágenes hiperespectrales.

La detección de contaminación biológica en los alimentos ha sido un tema de interés en las últimas décadas, debido a la industria alimentaria y las regulaciones gubernamentales. Las técnicas tradicionales basadas en medios de cultivo de agar tienen grandes deficiencias en la respuesta de confirmación rápida y la incapacidad de analizar un gran número de muestras, otra desventaja es la necesidad de destruir las frutas para llevar a cabo la siembra en los medios de cultivo. Además, el sistema de imágenes hiperespectrales se ha convertido en una herramienta para detectar bacterias en un tiempo considerablemente reducido (Yoon *et al.*, 2015).

Específicamente, la infección por *Salmonella typhimurium* en humanos es transmitida por el consumo de frutas, vegetales, carne de res o cerdo contaminados. Los brotes causados por esta bacteria han sido reportados en Canadá, Europa y los Estados Unidos (Cito *et al.*, 2016), los síntomas de esta bacteria son problemas gastrointestinales, fiebre y en algunos casos la muerte.

Por otro lado, la producción mexicana de tomate enfrenta el desafío de cumplir con las regulaciones impuestas por los Estados Unidos y Canadá, donde los productos agrícolas deben cumplir con las características de seguridad, tiempos de entrega y reducir riesgos de contaminación, generan la urgente necesidad de desarrollar sistemas de detección más eficientes (Ribera *et al.*, 2012).

Por lo anterior, en este proyecto de investigación, el objetivo fue obtener modelos gaussianos con alto ajuste, para la cuantificación de la cantidad de inóculo de *Salmonella typhimurium*.

1.3. Materiales y métodos

1.3.1. Material biotecnológico.

La cepa fue aislada, identificada y proporcionada por el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UANL.

La cepa fue proporcionada en un tubo con agar Mueller Hinton y a partir de él se realizó la activación de *Salmonella typhimurium*. Se utilizaron tubos de ensayo conteniendo 10 ml de medio líquido de caldo de infusión de cerebro corazón esterilizados previamente en autoclave por 15 min a 15 libras de presión y 120°C. La transferencia se realizó utilizando una asa bacteriológica, se tomó una pequeña muestra de colonia, la cual se inoculó en el tubo, y posteriormente se incubó durante 24 horas a 35°C (Olsen y Hammack, 2000).

1.3.2. Muestras de tomate (*Solanum lycopersicum*).

Veinte frutos de tomate variedad "Roma" fueron seleccionados en un estado de poscosecha, fueron comprados en un supermercado local en el municipio de General Escobedo, Nuevo León, México. Los tomates cumplieron con alta calidad visual de acuerdo a Manley (1983).

1.3.3. Hipercubo de tomate contaminado

1.3.3.1. Sistema hiperespectral

El equipo hiperespectral utilizado para esta investigación fue la cámara PIKE F210b (Alliend Vision Technologies GmbH, 2018), en el cual la cámara, cuyo rango espectral es de 400 a 1000 nm, está acoplada a un espectrógrafo modelo ImSpector V10E (Specim, Spectral Imaging Ltd., 2018), y a su vez éstos están unidos a una estructura metálica. Para montar el sistema hiperespectral se construyó un sistema electro-mecánico que consiste esencialmente de una banda, un motor, una etapa de regulación de velocidad y la estructura para montar el sistema hiperespectral. El sistema electro-mecánico es necesario debido a la operación de barrido lineal requerida. Finalmente, a los sistemas anteriores se agrega el sistema de iluminación, que funciona con dos lámparas halógeno-tungsteno con una potencia total de 120 watts.

1.3.3.2. Inoculación de muestra

El primer paso fue marcar cuatro zonas de 1 cm² en cada uno de los veinte frutos de tomate, posteriormente se inoculó con la bacteria de *Salmonella typhimurium* en tres diferentes cantidades de dosificación, éstas fueron 5, 10, 15 µL, además, se dejó un área sin contaminar con fines de control, como podemos ver en la Figura 1.1. La extensión del inóculo en la superficie del tomate se llevó a cabo con la ayuda de la puntilla de la micropipeta.

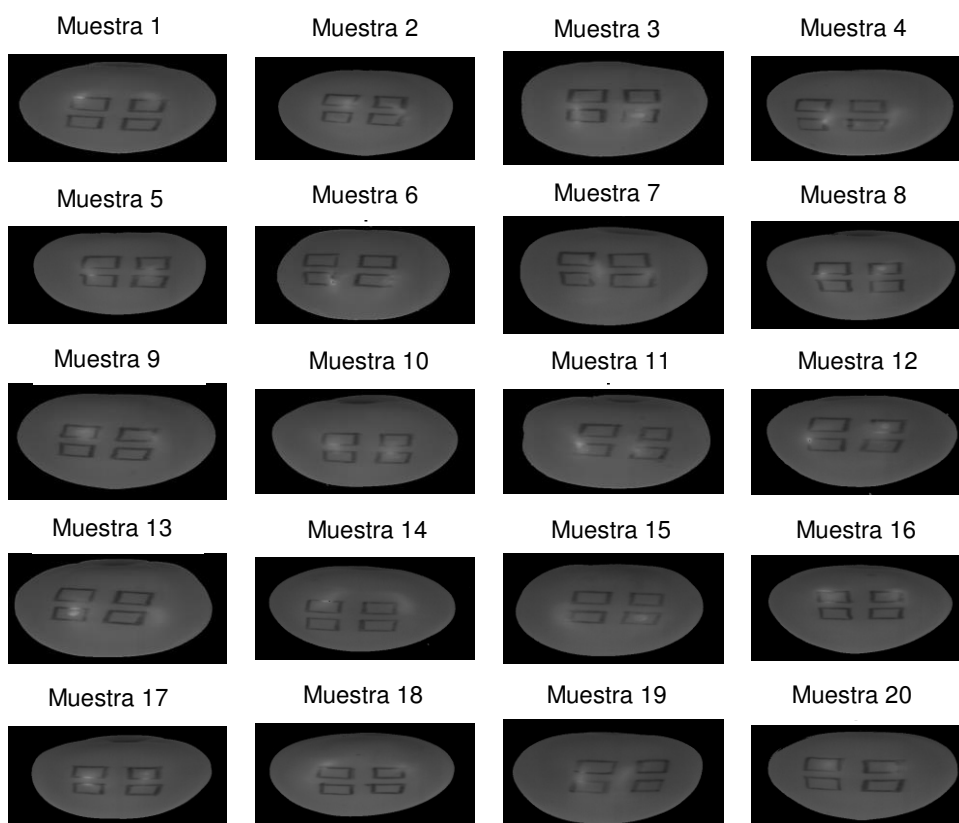


Figura 1.1. Hiper-cubos de tomates mostrados en una longitud de onda de 692 nm, en cada tomate se dibujó cuatro zonas cuadradas, para dosificar con 0, 5, 10, 15 µL de *Salmonella typhimurium*.

1.3.3.3. Pre-procesamiento y preparación de datos

El procesamiento de imágenes hiperespectrales generalmente tiene un paso previo llamado pre-procesamiento, necesario para eliminar el efecto de píxeles muertos, señales ruidosas, errores causados en la conversión de procesos analógicos a digitales. Además, debido a la gran abundancia de datos, se requiere un proceso de calibración y prueba de hipercubos para corregir los datos de los píxeles (James y Geladi, 2007). El diagrama de etapas de trabajo se muestra en la Figura 1.2., y su análisis posterior se analiza en la siguiente sección.

1.3.3.4. Normalización.

El análisis de datos hiperespectrales, implica un gran número de variables, esta es la principal razón por la cual los hipercubos deben ser adaptados a estándares más adecuados y con esto mejorar el tiempo de procesamiento computacional.

La normalización de todos los hipercubos es un paso importante, y esta fue realizada utilizando la Ecuación 1.

$$Hiper cubo_{Norm} = \frac{Himg - Ref_N}{Ref_B - Ref_N} \quad Ec. (1)$$

Donde, $Hiper cubo_{Norm}$ es el hipercubo normalizado, $Himg$ = imagen hiperespectral sin procesar, Ref_N = referencia de fondo negro y la lente de la cámara cubierta, y Ref_B = fue generado con un mosaico de alta reflectancia y las luces del sistema encendidas.

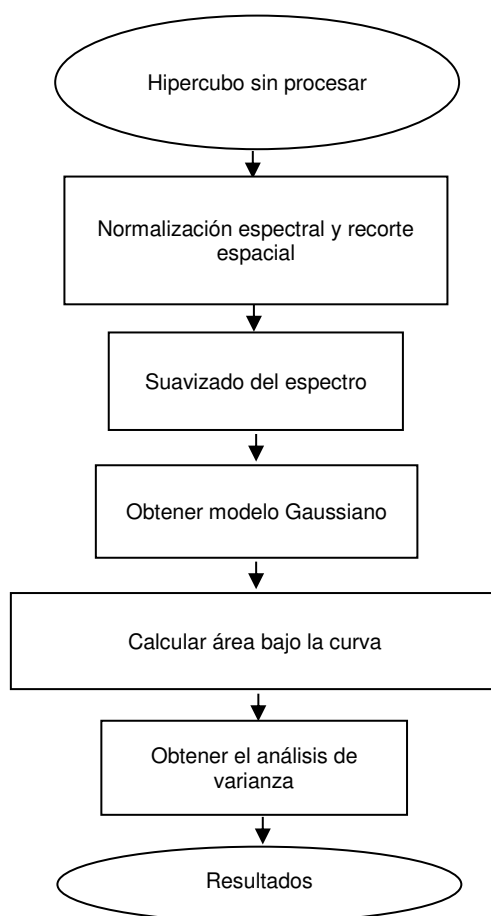


Figura 1.2. Flujo de trabajo del algoritmo propuesto para la detección de patógenos, utilizando el área bajo la curva.

1.3.3.5. Recorte espacial y espectral

Cada cubo de datos presentó una dimensión espacial de 600 x 1920 píxeles. Se debe tomar en cuenta que la mayoría de esta información está fusionada con el fondo de la imagen, el cual no tiene la finalidad de ser analizado, de ahí que un recorte espacial sea necesario. Cada cubo fue reducido a un cubo menor de 280 x 565 píxeles en promedio de dimensión espacial. Por otra parte, algunas veces no es necesario mantener todos los datos correspondientes al principio y fin del espectro, por esto, un recorte espectral fue hecho con la finalidad de reducir datos no esenciales.

1.3.3.6. Suavizado del espectro

El método de suavizado se utiliza en como un pre-proceso en las imágenes hiperespectrales para remover señales de ruido de alta frecuencia. El método de suavizado utilizado comúnmente en sensoria remota es el filtro Savitzky-Golay (Schmidt y Skidmore, 2004), el cual está basado en una ecuación polinomial de mínimos cuadrados aplicado en los pasos cortos de longitudes de onda. En este procedimiento, se usó una ventana de 11 pasos, con un polinomio de grado 2. La Figura 1.3. muestra todos los espectros después del procesamiento mencionado. Cada firma espectral es el resultado de la selección de una región de interés, promediando 9 píxeles distribuidos de forma cuadrada y siendo contiguos.

1.3.3.7. Obtención de los modelos de firmas espectrales.

En la naturaleza muchos fenómenos se distribuyen de manera de acuerdo a una distribución normal o Gaussiana (como se aprecia en la Figura 1.3.), de tal manera que éste modelo relaciona directamente el comportamiento de un conjunto de datos. El ajuste de curvas Gaussianas sigue siendo investigado como un algoritmo para la detección de patrones en ciencias biológicas, sociales y físicas (Gauch y Chase, 1974).

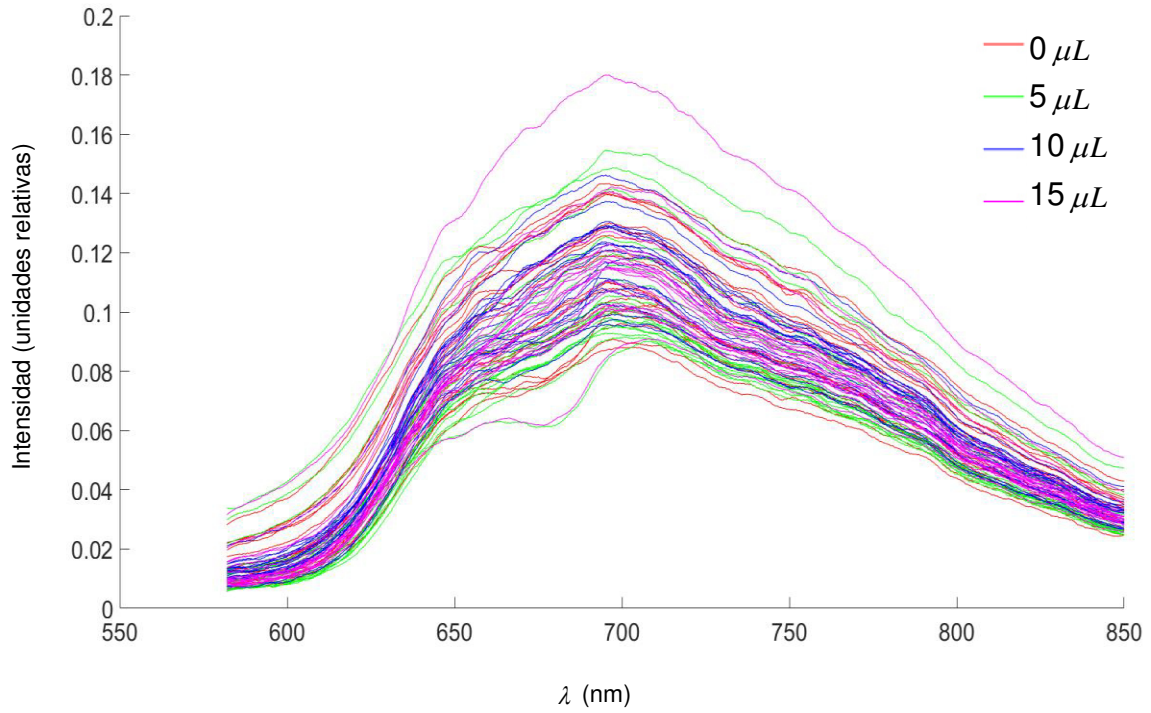


Figura 1.3. Firmas espectrales de 80 píxeles extraídos de 20 frutos de tomates, se seleccionó una región de interés en cada zona contaminada.

Para calcular el modelo Gaussiano para cada espectro, se utilizó la plataforma MATLAB y la herramienta para el ajuste de curvas (Matlab, 2016). Un total de 80 modelos fueron obtenidos, después de varios ajustes de modelo hasta encontrar la mejor combinación la cual fue un modelo polinomial Gaussiano de 5 términos, como se muestra en la Ecuación 2.

$$f(x) = a_1 e^{-\frac{(x-b_1)^2}{c_1}} + a_2 e^{-\frac{(x-b_2)^2}{c_2}} + a_3 e^{-\frac{(x-b_3)^2}{c_3}} + a_4 e^{-\frac{(x-b_4)^2}{c_4}} + a_5 e^{-\frac{(x-b_5)^2}{c_5}} \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde $f(x)$ es el modelo Gaussiano, x es la longitud de onda como variable independiente, y $a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, c_1, c_2, c_3, c_4, c_5$ son los coeficientes a calcular.

1.3.3.8. Calculando el área bajo la curva y análisis estadístico.

El cálculo del área fue realizado al resolver la integral definida (Ecuación 3). MATLAB 2016a proporciona el comando llamado “quad” el cual evalúa numéricamente la integral, con cuadratura de Simpson.

$$A = \int_{wl_0}^{wl_1} f(x)dx \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde A es el área bajo la curva; wl_0 y wl_1 son los límites inferior y superior, respectivamente, y $f(x)$ es el modelo Gaussiano. Por otro lado, el rango entre 582 a 850 nm fue utilizado, distribuido en 482 bandas.

Después de calcular el área bajo la curva, un análisis de varianza de factor simple fue realizado en Microsoft Excel version 2016 (Excel, 2016), la razón para esto, fue encontrar si existía relación entre la cantidad de dosis (cada 5 μL) y el decremento de la firma espectral.

1.4. Resultados y discusión

1.4.1. Resultados con el modelo de Gauss

El Cuadro 1.1. muestra los resultados correspondientes de la curva de bondad de ajuste con los modelos Gaussianos, y el Apéndice 1.1 muestra el código del programa computacional. Es notorio un valor bajo, en la suma de cuadrados del error, lo que

significa que el modelo tiene un componente de error aleatorio más pequeño, ya que está más cercano a cero (Steinley, 2007), y su coeficiente de determinación (R^2) presentó valores superiores a 0.9986, lo cual demuestra una alta coincidencia entre el modelo gaussiano y las respuestas de los espectros a una determinada dosis. Además, los otros dos modelos paramétricos de bondad de ajuste son R cuadrada ajustada y la raíz del error cuadrático medio que muestran valores superiores a 0.99920 y menores de 0.001, respectivamente.

Cuadro 1.1. Resultados de los modelos de ajuste, cada valor es el resultado de los medios de ajuste de cada dosis.

Dosis	Suma de cuadrados del error	R^2	R^2 Ajustado	Raíz del error cuadrático medio
0 μ L	0.00045494	0.99908	0.99905	0.00091
5 μ L	0.00026017	0.99939	0.99937	0.00071
10 μ L	0.0006778	0.99864	0.99860	0.00109
15 μ L	0.00037805	0.99922	0.99920	0.00085

Otro enfoque matemático para conocer la buena adaptación de un modelo predictivo se conoce como residuos, definidos como las diferencias entre la respuesta de los datos originales y la respuesta al modelo predicho, (Ecuación 4), con respecto a reconocer si el modelo era:

$$r = y - \hat{y} \quad \text{Ec. (4)}$$

La variabilidad del residual (r) entre positivos y negativos, es un indicador de un modelo de ajuste adecuado. En la Figura 1.4. se muestra un ejemplo de respuesta residual. Si la gráfica de residuos parece comportarse de forma aleatoria, significa que

el modelo se ajusta bien a los datos, de lo contrario, si los residuos parecen comportarse como un patrón sistemático, entonces, es un claro caso de desajuste entre los datos y el modelo (NIST/SEMATECH, 2012). En esta investigación, los 80 modelos mostraron residuales al azar, lo que significa un modelo acertado ya que la sumatoria de los residuales debe ser igual a cero.

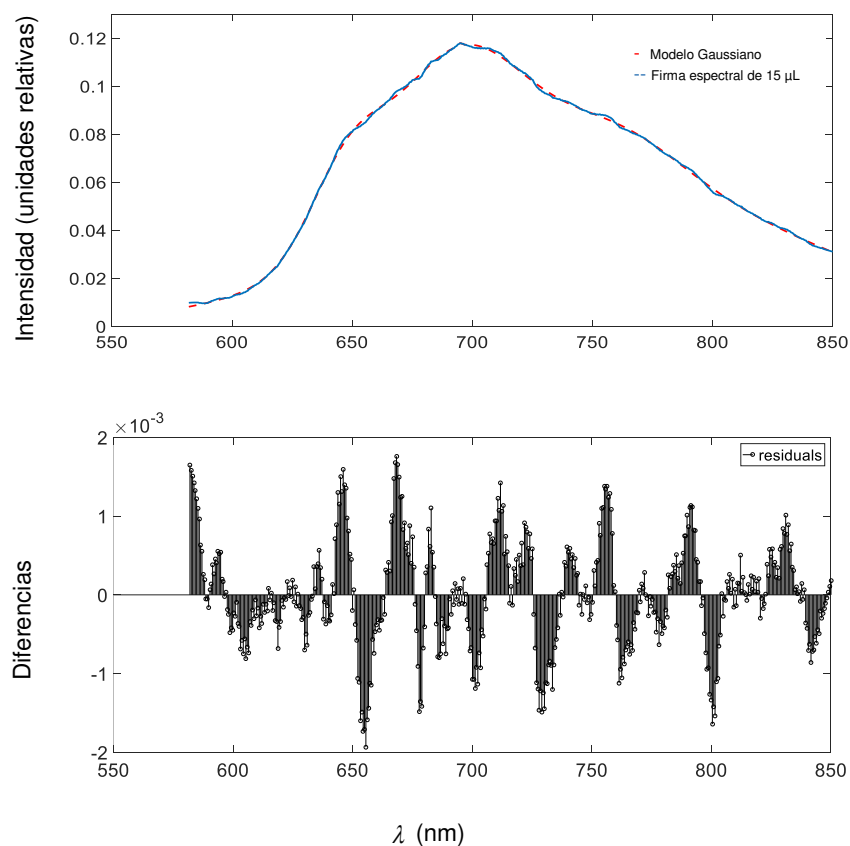


Figura 1.4. El gráfico superior muestra un ejemplo de espectro suavizado (azul) y el modelo predictivo (rojo), el gráfico inferior muestra un comportamiento aleatorio en los residuos, lo que significa una buena predicción.

1.4.2. Áreas bajo las curvas y sus análisis

Las áreas extraídas de todas las firmas espectrales se muestran en la Figura 1.5.. La tendencia en este conjunto de datos parece disminuir con dosis más altas en la mayoría de las sub-muestras, el significado de esto es una mayor absorbancia en la superficie infectada, como una excepción la superficie del tomate 3, 4, 5, 6, 10, 11, 13 y 15 no tuvo este comportamiento, lo cual puede explicarse a una estrecha relación entre la orientación y la posición en el momento de la adquisición de hipercubos, es decir, pequeñas zonas de saturación de luz.

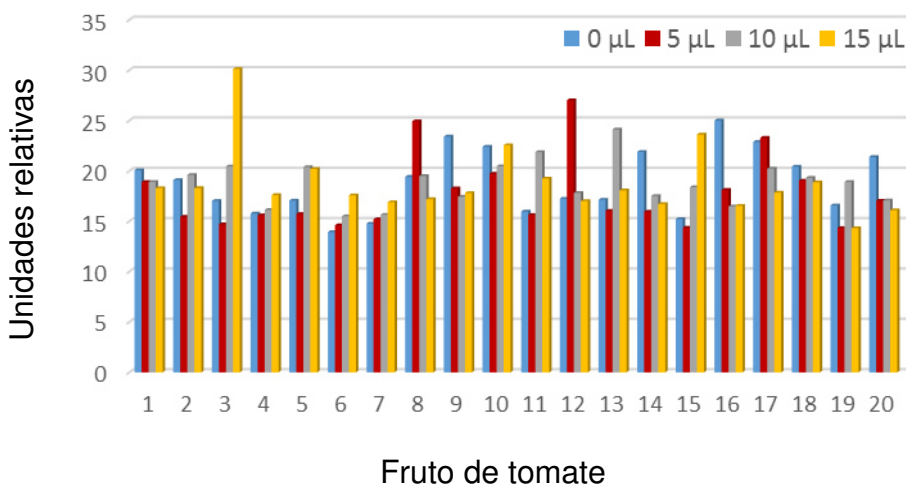


Figura 1.5. Áreas totales bajo la curva de 20 frutos de tomate.

Como último paso, los resultados del cálculo para un único factor análisis de varianza se muestran en el Cuadro 1.2. debido al valor $P < 0.05$ significa que no hay significancia entre las dosis y la respuesta al espectro.

Cuadro 1.2. Resultados de análisis de varianza de factor único, tomando área bajo la curva para el análisis de datos.

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor-P	F crítica
Entre grupos	17.899	3	5.966	0.599	0.617	2.724
Dentro de grupos	756.038	76	9.947			
Total	773.938	79				

1.5. Conclusiones y recomendaciones

El cálculo del área bajo la curva demostró ser una metodología eficiente para asignar un valor numérico a cada firma espectral perteneciente a una dosis específica. Debido a los altos coeficientes de determinación ($R^2 > 0.99$) obtenidos, se puede inferir que es un estimador confiable para caracterizar firmas espectrales.

Los resultados del análisis no presentaron diferencia significativa para los valores numéricos obtenidos de las diferentes zonas marcadas en los tomates bajo las condiciones de luz y dosis establecidas en el experimento.

1.6. Referencias

- Akinsola, J. 2017. Supervised Machine Learning Algorithms: Classification and Comparison. *International Journal of Computer Trends and Technology*, 48(3), 128–138.
- Alliend Vision Technologies GmbH. 2018. Digital industrial cameras for multiple industries. (Disponibile en: <https://www.alliedvision.com/en/digital-industrial-camera-solutions.html>)
- Ben-David, S., and Shalev-Shwartz, S. 2014. *Understanding Machine Learning: From Theory to Algorithms*. Cambridge University Press. 449 pages.
- Brown, A. J. 2006. Spectral curve fitting for automatic hyperspectral data analysis. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 44(6), 1601–1607.
- Chang, C. I., and Wang, S. 2006. Constrained band selection for hyperspectral imagery. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 44(6), 1575–1585.
- Cito F., Baldinelli F., Calistri P., Di Giannatale E., Scavia G., Orsini M., Iannetti S., Sacchini L., Mangone I., Candeloro L., Conte A., Ippoliti C., Morelli D., Migliorati G., Barile N.B., Marfoggia C., Salucci S., Cammà C., Marcacci M., Ancora M., Dionisi A.M., Owczartek S., Luzzi I. 2016. Outbreak of unusual *Salmonella* enterica serovar Typhimurium monophasic variant 1,4 [5],12:i:-. *Euro Surveillance*, 21(15):1-10.
- Excel. 2016. Microsoft Excel 2016. (Disponibile en: <https://products.office.com/es-mx/excel>).
- Gauch, H. G. J., and Chase, G. B. 1974. Fitting the Gaussian curve to Ecological data. *Ecology*, 55(6), 1377–1381.
- Gomez, R. B., Jazaeri, A., and Kafatos, M. 2001. Wavelet-based hyperspectral and multispectral image fusion. In *Geo-Spatial Image and Data Exploitation II*.

- International Society for Optics and Photonics, 4383:36–43.
- Gupta, M., and Jacobson, N. 2006. Wavelet Principal Component Analysis and its Application to Hyperspectral Images. 2006 International Conference on Image Processing, p. 1585–1588.
- Hsu, P. H. 2007. Feature extraction of hyperspectral images using wavelet and matching pursuit. ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing, 62(2), 78–92.
- Hsu, P. H., Tseng, Y. H., and Gong, P. 2002. Dimension Reduction of Hyperspectral Images for Classification Applications. Geographic Information Sciences, 8(1), 1–8.
- James, B., and Geladi, P. 2007. Hyperspectral NIR image regression part II: Dataset preprocessing diagnostics. Journal of Chemometrics, 20(3-4): 398–405.
- Li, S., Zhu, Y., Wan, D., and Feng, J. 2013. Hyperspectral band selection from the spectral similarity perspective. In International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS). Melbourne, Australia. p. 410–413.
- Malenovsky, Z., Ufer, C., Lhotáková, Z., Clevers, J. G., Schaepman, M. E., Albrechtová, J., and Cudlín, P. 2006. A new hyperspectral index for chlorophyll estimation of a forest canopy: Area under curve normalised to maximal band depth between 650-725 nm. EARSeL eProceedings, 5(2), 161-172.
- Manley, W. T. 1983. United States standards for grades of tomatoes for processing. USDA Agric. Marketing Serv., Washington, DC, p. 1-6.
- MATLAB. 2016. Matlab version 9.10.0 (R2016a). Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc. (Disponibile en: <https://la.mathworks.com/>).
- NIST/SEMATECH. 2012. e-Handbook of Statistical Methods. (Retrieved from <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/>)
- Olsen, A. R., and Hammack, T. S. 2000. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens*

- (Wiedemann)(Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *Journal of food protection*, 63(7), 958-960.
- Peng, Y., and Lu, R. 2008. Analysis of spatially resolved hyperspectral scattering images for assessing apple fruit firmness and soluble solids content. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 52–62.
- Ribera, L. A., Palma, M. A., Paggi, M., Knutson, R., Masabni, J. G., and Anciso, J. 2012. Economic Analysis of Food Safety Compliance Costs and Foodborne Illness Outbreaks in the United States. *HortTechnology*, 22(2), 150–156.
- Schmidt, K. S., and Skidmore, A. K. 2004. Smoothing vegetation spectra with wavelets. *International Journal of Remote Sensing*, 25(6), 1167–1184.
- Steinley, D. 2007. Validating clusters with the lower bound for sum-of-squares error. *Psychometrika*, 72(1), 93–106.
- Specim, Spectral Imaging Ltd. 2018. ImSpector V10E. (Disponibile en: <http://www.specim.fi/products/imspector-v10e/>).
- Wang, L., Gao, K., Cheng, X., Wang, M., and Miu, X. 2012. A Hyperspectral Imagery Anomaly Detection Algorithm Based on Gauss-Markov Model. 2012 Fourth International Conference on Computational and Information Sciences, p.135–138.
- Wu, D., and Sun, D.-W. 2013. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review — Part II: Applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 15–28.
- Yang, H., Du, Q., Su, H., and Sheng, Y. 2011. An efficient method for supervised hyperspectral band selection. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, 8(1), 138–142.
- Yoon, S., Shin, T.S., Lawrence, K. C., Heitschmidt, G. W., Park, B., and Gamble, G. R. 2015. Hyperspectral imaging using RGB color for foodborne pathogen detection. *Journal of Electronic Imaging*, 24(4):1-10.
- Zhang, Y. Q., and Rajapakse, J. C. 2008. Machine Learning in Bioinformatics. *Machine*

Learning in Bioinformatics, 7(1):86-112.

Zhu, X. 2006. Semi-supervised learning literature survey. Computer Science, University of Wisconsin-Madison, 60 pages. (Disponible en: http://pages.cs.wisc.edu/~jerryzhu/pub/ssl_survey.pdf).

CAPÍTULO 2. DETECCIÓN DE *Salmonella typhimurium* EN TOMATE (*Solanum lycopersicum*) UTILIZANDO ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES E IMÁGENES HIPERESPECTRALES EN EL ESPECTRO VISIBLE E INFRARROJO CERCANO (400 – 1000 nm)

2.1. Introducción

La inspección automática basada en imágenes aplicada en el sector agrícola ha tenido un gran desarrollo en los últimos años con aplicaciones de captura de datos en tierra o aire (sensores remotos), especialmente en la evaluación de los recursos naturales, agricultura de precisión, calidad en productos postcosecha, la detección de contaminantes sólidos y la clasificación automática por golpes o daños en los frutos. Las principales características de los sistemas de visión de máquina son: reconocimiento de tamaño, forma, color y textura de los objetos; además proporcionan atributos numéricos del objetivo a analizar (Kim *et al.*, 2002). Sin embargo, en años más recientes, la necesidad de detectar de manera rápida y precisa contaminantes de origen bacteriano en la superficie de frutos, ha llevado a la comunidad científica a buscar nuevas técnicas de detección.

Los métodos tradicionales para la detección de bacterias están basados en medios de cultivos selectivos, estos métodos tienen limitantes tales como: alto consumo en tiempo, costo, límites de detección y la imposibilidad de analizar un gran número de muestras (Foca *et al.*, 2016). Por esta razón, el desarrollo de métodos rápidos, de bajo costo y análisis no destructivos, son tareas de creciente interés. El análisis de imágenes obtenidas con cámaras convencionales en el espacio de color rojo-verde-azul, tiene dificultades para detectar información espectral en muestras derivadas de frutas, verduras o carne (Cen y He, 2007), ante esta limitante los sistemas de procesamiento de imágenes hiperespectrales surgen como una solución muy eficiente para el control de la seguridad y calidad en productos alimenticios, siendo capaces incluso de caracterizar a fondo los componentes individuales de la composición química de los objetos a analizar (Amigo *et al.*, 2015).

La metodología de imágenes hiperespectrales es cada vez más aceptada en el campo de la microbiología, ya que es capaz de detectar la reflectancia, transmisión, dispersión, transreflectancia o fluorescencia de los objetos, dando como resultado una mejor identificación de microorganismos en las longitudes de onda cercanas al infrarrojo (700–1000 nm); sin embargo, esta técnica utiliza la región de luz visible (400–700 nm) para brindar información espectral y espacial de la muestra (Gowen *et al.*, 2007; Cheng y Sun, 2015).

Por lo anterior mencionado, en esta investigación se plantearon los siguientes objetivos: 1) determinar las características espectrales de la bacteria *Salmonella typhimurium* bajo condiciones de iluminación del espectro visible y en la zona cercana

al infrarrojo y 2) diseñar algoritmo que permita el agrupamiento de patrones, para la clasificación de zonas contaminadas y saludables en la superficie de tomates.

2.2. Revisión de literatura

La idea de analizar imágenes con diferentes variables físicas como temperatura, campos electromagnéticos, impedancias, entre otras, empezó a surgir en la década de los noventas, y fue conocida como técnica de imágenes multivariadas. El objetivo de la investigación fue descomponer diferentes imágenes en sus componentes principales y estimar los componentes químicos que se encontraban en la escena (Esbensen y Geladi, 1989).

El aeroplano AVIRIS fue la primera nave con un sensor de imágenes que podía medir el espectro de la reflexión de luz, desde 400 nm hasta los 2500 nm con intervalos de 10 nm. El sistema AVIRIS tuvo un gran impacto en la ciencia, con este sistema se pudieron realizar estudios sobre la atmosfera, la ecología, la vegetación, geología y suelos, ríos y costas, superficies cubiertas con nieve, hidrología, la quema de biomasa, riesgos ambientales, simulación y calibración de satélites, aplicaciones comerciales, algoritmos espectrales, infraestructura humana, así como modelos espectrales (Green *et al.*, 1998).

Con la incorporación de sensor Thematic Mapper al satélite Landsat 4 en 2001 se inició el estudio de grandes extensiones geográficas del planeta. Imágenes de la misma

escena analizada en diferentes longitudes de onda, permitieron conocer la composición química de muchos lugares en el planeta. Además, con este tipo de tecnología se localizaron campos petrolíferos, minas de cobre, carbón entre otros materiales (White *et al.*, 1997).

Con el reciente avance tecnológico en el desarrollo de cámaras con dispositivos de carga acoplados y semiconductor óxido metálico complementario de alta resolución, espectroscopios y software de alto poder computacional (como MATLAB, ENVI y librerías para C++) (Zhang *et al.*, 2012), los científicos han orientado esta tecnología, que en un principio era para analizar zonas geográficas, en aplicaciones como: conservación de pinturas artísticas, análisis de seguridad y calidad en alimentos, composición química de productos agroalimentarios.

De acuerdo a Ariana y Lu (2010) las imágenes hiperespectrales han emergido como una tecnología prometedora para la inspección interna y externa de alimentos y productos agrícolas. Esta tecnología adquiere información espectral y espacial simultáneamente de un objeto, cubriendo una porción del espectro electromagnético, desde el ultravioleta hasta el infrarrojo (200 nm hasta 1200 nm), dependiendo de los requerimientos de la aplicación. Ellos generaron imágenes hiperespectrales de pepinos normales y defectuosos, utilizando una reflexión de 400-740 nm y una transmitancia de 740-1000 nm determinaron cuatro subconjuntos de bandas con el algoritmo de ramificación y bordes, combinado con un clasificador de vecindario k más cercano y obtuvieron el perfil de las firmas espectrales de los pepinos, para una clasificación automática basada en estas curvas.

Otro tipo de aplicaciones de imágenes hiperespectrales con aplicación en la agricultura incluyen, detección de golpes y otros defectos en manzanas (Lu y Fei, 2014; Mehl *et al.*, 2004; Xing *et al.*, 2007), contaminación fecal de manzanas y aves de corral procesados (Kim *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2007), atributos de calidad en fresa (ElMasry *et al.*, 2007), firmeza y contenido de sólidos solubles en manzanas (Peng y Lu, 2008), madurez de tomate (Polder *et al.*, 2002), ácidos de cítricos (Qin *et al.*, 2009) y daños por congelación en hongos comestibles (Gowen *et al.*, 2009).

2.2.1. Imágenes hiperespectrales.

La calidad y seguridad de los alimentos son usualmente definidos por los atributos físicos (textura, color, manchas), atributos químicos (por ejemplo, grasa, humedad, contenido de proteínas, pH, pérdidas de líquido) y atributos biológicos (conteo total de bacterias). Tradicionalmente, la evaluación de la calidad y seguridad implica inspección visual humana y/o experimentos químicos y biológicos. La inspección visual es una medida subjetiva y puede ser difícil y poco fiable, además de tener pobre repetibilidad en los resultados. La determinación por experimentos químicos y biológicos es un proceso complejo, costoso en tiempo, destructivo y algunas veces perjudiciales al ambiente. Es por ello que es deseable desarrollar una técnica precisa, no-destructiva, y en tiempo real para la evaluación de calidad y seguridad en alimentos. Esta técnica fue desarrollada originalmente para aplicaciones de teledetección como un medio de superar las limitaciones de la espectroscopia y las técnicas de visión artificial (Kruse *et al.*, 1993).

El procesamiento de imágenes hiperespectrales es una tecnología avanzada emergente que se puede emplear en ingeniería de alimentos, especializada en el análisis y control de la calidad y seguridad de los alimentos. La habilidad de las imágenes hiperespectrales para obtener información tanto del espectro como del espacio de objetos de interés, evaluándolos de manera no destructiva, objetiva y en tiempo real, hacen de esta tecnología un método orientado a la calidad y seguridad en alimentos (Liu y Ngadi, 2014).

De acuerdo a Gowen *et al.* (2007) el procesamiento de imágenes hiperespectrales tiene muchas ventajas sobre imágenes en el espacio rojo-verde-azul, cercano infrarrojo e imágenes multiespectrales. Aplicaciones como detección de contaminantes, defectos, análisis de compuestos y evaluación de contaminantes en la carne son cada vez más utilizadas en la industria.

2.2.2. Fundamento de las imágenes hiperespectrales

Las imágenes hiperespectrales combinan imágenes tradicionales y tecnología espectroscópica, combinadas para obtener información del espectro y el espacio de un objeto de interés por encima de las regiones del espectro visible, ultravioleta y cercano al infrarrojo (200 nm - 12 μ m) (Bannon, 2009). Los sistemas de imágenes hiperespectrales proporcionan imágenes que constan de numerosas imágenes espaciales del mismo objeto en diferentes longitudes de onda. Una imagen hiperespectral, también llamada hipercubo, es un cubo de información en tres dimensiones el cual se logra a través de la superposición de las imágenes espaciales tomadas por el sensor hiperespectral. Estas imágenes están compuestas de vectores

de píxeles, y representan la composición y apariencia de la muestra alimenticia en particular (Gowen *et al.*, 2007).

Típicamente los sistemas imágenes hiperespectrales engloban hardware y software especializado. La configuración específica puede variar dependiendo del objeto a ser evaluado y la técnica de adquisición de la imagen. Ejemplo de este tipo de sistemas los observamos en diferentes estudios como frutos de fresa (*Fragaria spp.*) (ElMasry *et al.*, 2007), carne de puerco (Qiao *et al.*, 2007), jamón (Iqbal *et. al.*, 2014).

La plataforma hardware de un sistema de procesamiento de imágenes hiperespectrales comparte componentes comunes básicos y pueden observarse en la Figura 2.1:

- a) Iluminación para proveer una fuente de luz (usualmente producida por lámparas de halógeno).
- b) Irradiación de luz ya sea directa o a través de fibra óptica.
- c) Cámara (del tipo dispositivos de carga acoplada, semiconductor complementario de óxido metálico y arseniuro de indio y galio), el cual obtiene tanto la resolución espectral y espacial simultáneamente.
- d) Espectrógrafo para dispersar las longitudes de onda de la luz y entregar señales fotosensibles a la superficie de la cámara.
- e) Lente objetivo, para ajustar el rango de la adquisición de la luz.
- f) Estructura de apoyo y barrido, para desplazar el objeto y poder realizar una toma puntual del objeto.

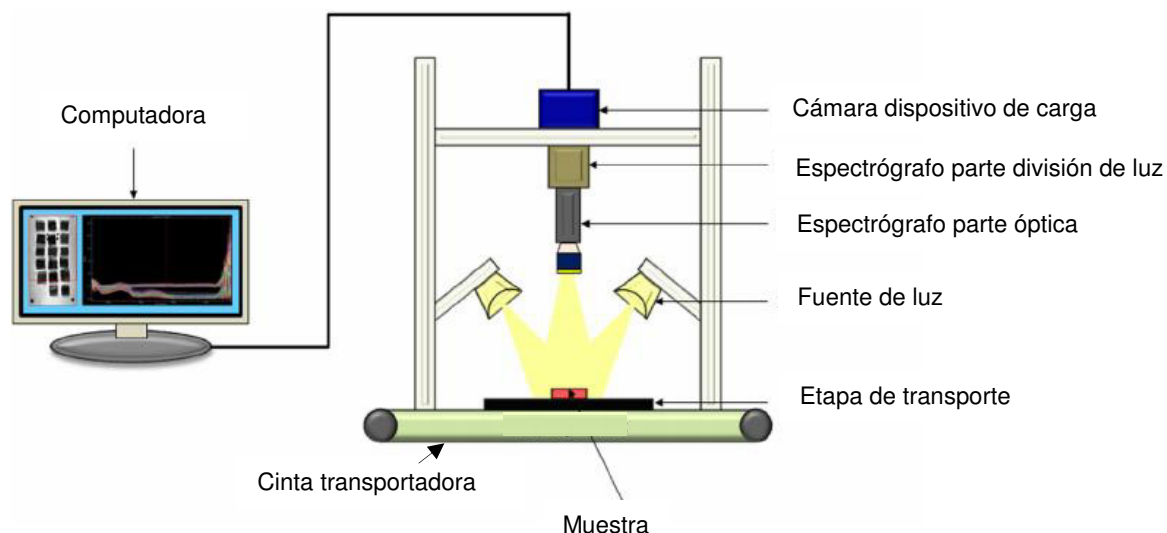


Figura 2.1. Esquema general de un sistema de procesamiento de imágenes hiperespectrales. Fuente: He y Sun, 2015.

2.2.3. *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacterias Gram negativas no esporuladas, anaerobias facultativas, mesófilas con una temperatura óptima de crecimiento de 35 – 37 °C y un rango de 5 - 46 °C. (Bhunja *et al.*, 2007). El género *Salmonella* está constituido por dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Mediante la serotipificación basada en el esquema, de Kauffmann-White (Grimont y Weill, 2007), que consiste en la caracterización, por aglutinación de los antígenos somáticos O, de los antígenos flagelares H y del antígeno capsular Vi. Se han descrito más de 2.400 serotipos (Echeita *et al.*, 2012).

Desde el punto de vista epidemiológico *Salmonella* spp. puede clasificarse en tres grupos:

- a) Las que no tienen preferencia por algún huésped en especial, por lo que infectan tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de las salmonelosis.
- b) Las que infectan sólo al hombre: *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A y *Salmonella paratyphi* C y que se transmiten en forma directa o indirecta de una persona a otra.
- c) Las que están adaptadas a un huésped en especies animales: *S. abortusovis*, a los ovinos; *S. abortusequi*, a los equinos y *S. gallinarum*, a las aves (Rodríguez *et al.*, 2018).

2.2.4. *Salmonella typhimurium*

La salmonelosis es una infección en humanos de importancia en salud pública debido al impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados. Es una enfermedad transmitida por los alimentos los cuales causan la mayor parte de los brotes que afectan a centenares de personas y, aunque puede ser causada por cualquiera de los casi 2,500 serotipos que existen hasta hoy, los que se aíslan con mayor frecuencia en México son *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium*. (Gutiérrez, 1994; González, 1985).

Se han descrito brotes por *Salmonella typhimurium* en humanos en distintos países, transmitidos a través de alimentos procesados, como huevos y leche pasteurizada (CDC., 2004; Olsen, 2004), alimentos crudos como leche (Mazurek, 2003) lechugas o por transmisión a través de manipuladores de alimentos. En países como México ha llegado a ser el serotipo más identificado (Gutiérrez *et al.*, 2000).

2.2.5. Métodos de detección de *Salmonella*

En 2008, un brote de la enfermedad asociado con tomates frescos provocó que 1,442 personas fueran infectadas con *Salmonella* en 29 de 50 entidades de Estados Unidos (CDC, 2008a). La Administración para las Medicinas y Alimentos de los Estados Unidos de América recolectó y probó 1,700 muestras de frutos de tomate; sin embargo, en ninguno de ellos se encontró la bacteria. La cepa de *Salmonella* responsable fue confirmada 6 meses después, y ésta se encontraba en frutos de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'Jalapeño') (CDC, 2008b). A pesar de que la Administración para las Medicinas y Alimentos publicó una lista segura de proveedores de tomate, los posibles consumidores dejaron de comprarlos. Esto ocasionó una pérdida de cosecha estimada en 100 millones de dólares americanos.

Los métodos actuales para la detección de este tipo de bacterias, tales como medios de cultivos selectivos, y reacción en cadena de polimerasa requieren la recolección de muchas muestras, seguido de una preparación adecuada del medio de cultivo, o una correcta extracción de ácido desoxirribonucleico, respectivamente. Estas pruebas son tediosas y consumen mucho tiempo, además, que solo se puede hacer para una pequeña cantidad de frutos, el análisis de grandes volúmenes de alimentos utilizando estas técnicas se vuelve ineficiente y muy costosos (Kim *et al.*, 2002).

Li *et al.* (2010) en la Universidad Auburn, en Alabama, Estados Unidos de América, implementaron un método novedoso en la detección de *Salmonella typhimurium*. Utilizaron biosensores electromagnéticos basados en fagos (virus que atacan a bacterias exclusivamente) para la detección de *Salmonella* en la superficie de tomates frescos. Los biosensores electromagnéticos son sensores inalámbricos, cuya

oscilación de resonancia y frecuencia se accionan y detectan a través de un campo magnético generado por una bobina. La conclusión de esta investigación fue que la presencia de la *Salmonella* spp. pudo ser detectada en forma de campo magnético utilizando los biosensores electromagnéticos, ya que estos modificaban su frecuencia de oscilación cuando se unían a las células de *Salmonella*. El método se puede observar en la Figura 2.2.

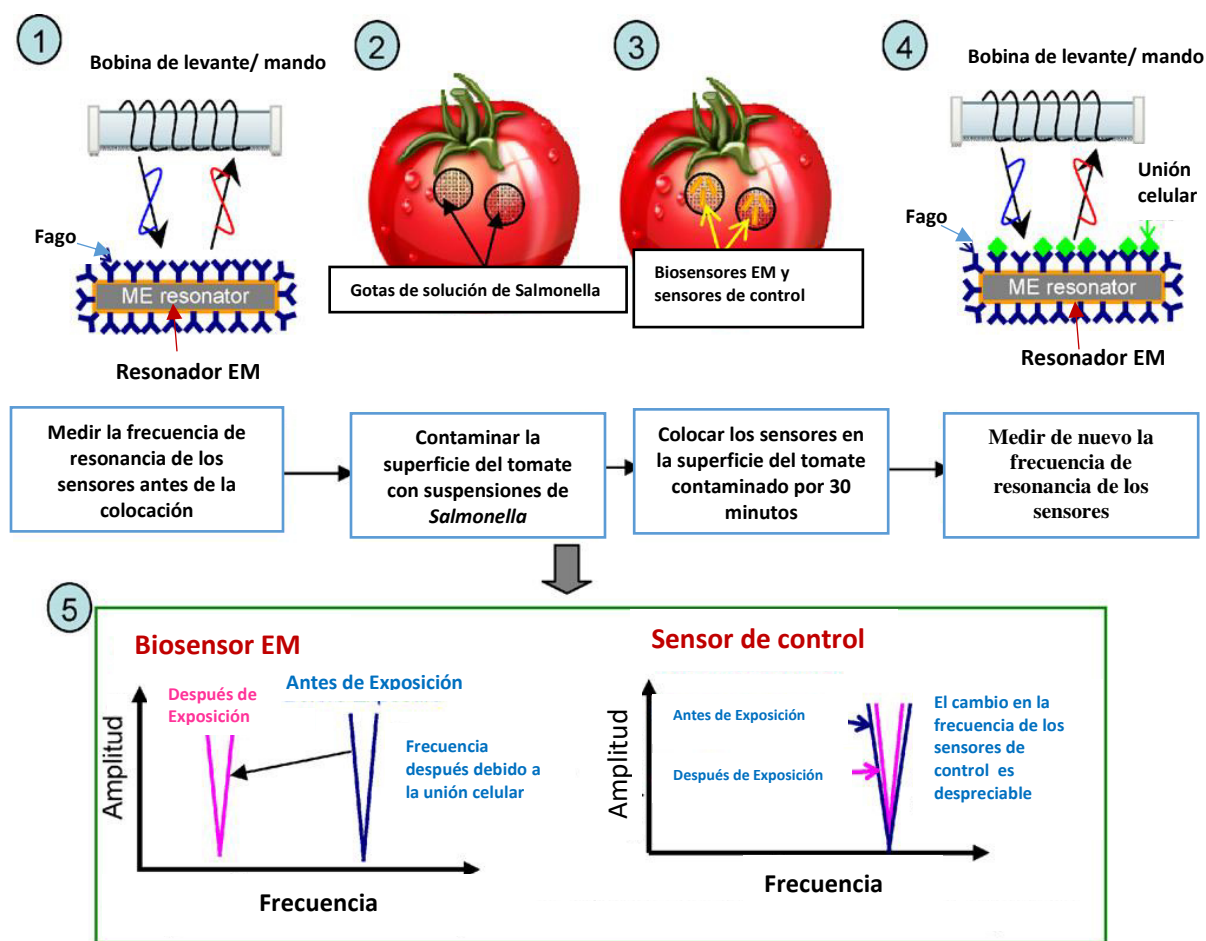


Figura 2.2. Biosensor electromagnetico y sensor de control. Fuente: Li *et al.*, 2010.

2.2.6. Espectro electromagnético

El espectro electromagnético como se muestra en la Figura 2.3., consiste en muchas regiones y está compuesto principalmente por rayos gamma, rayos X, radiación ultravioleta, luz visible, radiación infrarroja, dividida a su vez en infrarrojo cercano, infrarrojo medio, e infrarrojo lejano. El sensor electromagnético contiene también a las microondas y ondas de radio (FM y AM). Cada región corresponde a una transición atómica o molecular de tipo específico, correspondiente a diferentes energías. Es importante mencionar que las longitudes de onda incrementan hacia la derecha, a diferencia la frecuencia decrece (ya que son inversamente proporcionales). El ojo humano sólo puede percibir la pequeña región comprendida entre los 400 y 700 nm.

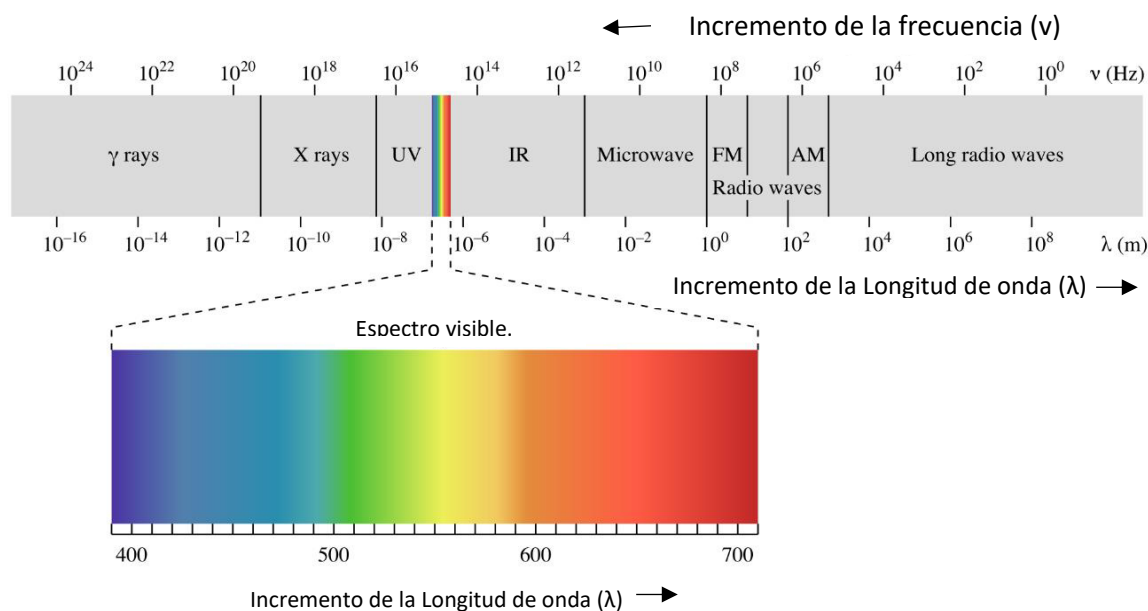


Figura 2.3. Espectro electromagnético. Fuente: Atkins y Jones, 2012.

2.2.7. Interacción de la luz con las muestras

El desarrollo de los sistemas de procesamiento con imágenes hiperespectrales, como herramienta para el análisis no destructivo de alimentos, está basado en el entendimiento de las propiedades físicas de la luz, y la interacción de los fotones con la estructura molecular de las muestras (frutos, verduras, carnes). Es de suma importancia el estudio de la interacción de la luz con materiales biológicos y muestras de alimentos en la identificación de moléculas en base a sus propiedades intrínsecas a fin de encontrar sus funciones, identificar interacciones entre diferentes moléculas, detectar cambios morfológicos dentro de materiales biológicos para correlacionar los cambios que se producen en muestras contaminadas con enfermedades fisiológicas. Cualquier material, ya sea metálico o alimenticio, emite y absorbe energía continuamente, incrementando o disminuyendo sus niveles de energía molecular.

Cuando una muestra es expuesta a la luz, parte de esta es reflejada por la superficie del objeto, causando reflexión especular, otra parte de la energía es transmitida a través de la superficie dentro de la estructura celular donde es dispersa por la interacción de los tejidos, además, una parte de la energía es absorbida por los componentes celulares. (Birth, 1976).

Se ha determinado que la estructura molecular, la cual compone la superficie de un objeto, refleja con mayor o menor grado de intensidad, ciertas longitudes de onda. Lammertyn *et al.* (2000) encontró que la luz tenía una profundidad de penetración de 4 mm en las longitudes de 700 – 900 nm, mientras que sólo penetraba de 2 a 3 mm en el rango de 900 – 1900 nm. Sin embargo, en algunos tejidos la luz penetra con

mayor profundidad, y es absorbida en ciertas longitudes de onda específicas, la luz restante que es reflejada contiene información quimio-métrica útil. (Abbott, 1999).

2.2.8. Sistemas radiométricos y fotométricos

La radiometría es un sistema que describe y mide la propagación de la radiación electromagnética, tiene su propio lenguaje, modelo matemático e instrumentación. Los efectos que estudia es la radiación de la reflexión, refracción, absorción, transmisión y dispersión provocada por materiales en fases gaseosas, sólidas o líquidas. (McCluney, 2014).

2.2.8.1. Fotometría

La fotometría es un intento por cuantificar el brillo o iluminación a la cual el ojo humano responde, el espectro electromagnético correspondiente se encuentra entre los 380 y 780 nm (Diffey, 2013).

2.2.8.2. Comparación entre unidades radiométricas y fotométricas en aplicaciones Biológicas

La espectralradiometría permite la determinación de la intensidad de radiación de una fuente, en función de su longitud de onda, conocida como distribución de potencial espectral. Las dos medidas radiométricas de mayor importancia para los fotobiólogos son la radiación de una fuente y la irradiación de una superficie, medidas en $\text{W} \cdot \text{sr}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ y $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ respectivamente. Todas las unidades fotométricas están relacionadas con la unidad de flujo luminoso, el lumen, el cual es el equivalente fotométrico del Watt. (Diffey, 2013). Ambos sistemas tienen unidades los cuales son equivalentes, si se toma en cuenta ciertos factores, como la energía proporcionada por una fuente en

todas las longitudes de onda, por ejemplo, para convertir de unidades fotométricas a radiométricas. Las unidades se muestran en los Cuadros 2.1. y 2.2.

Cuadro 2.1. Unidades del sistema internacional utilizadas en radiometría.

Magnitud física	Símbolo	Unidad del sistema internacional	Abreviación	Notas
Energía radiante	Q	Joule	J	Energía
Flujo radiante	Φ	Watt	W	Energía radiada por unidad de tiempo. Potencia.
Intensidad radiante	I	Watt por estereorradián	$W \cdot sr^{-1}$	Potencia por unidad de ángulo solido
Radiancia	L	Watt por estereorradián por metro cuadrado	$W \cdot sr^{-1} \cdot m^{-2}$	Potencia. Flujo radiante emitido por unidad de superficie y por ángulo solido
Irradiancia	E	Watt por metro cuadrado	$W \cdot m^{-2}$	Potencia incidente por unidad de superficie
Emitancia radiante	M	Watt por metro cuadrado	$W \cdot m^{-2}$	Potencia emitida por unidad de superficie de la fuente radiante
Radiancia espectral	L_λ o L_ν	Watt por estereorradián por metro cúbico o Watt por estereorradián por metro cuadrado por hercio	$W \cdot sr^{-1} \cdot m^{-3}$ o $W \cdot sr^{-1} m^{-2} \cdot Hz^{-1}$	Intensidad de energía radiada por unidad de superficie, longitud de onda y ángulo sólido.
Irradiancia espectral	E_λ o E_ν	Watt por metro cúbico o Watt por metro cuadrado por hercio	$W \cdot m^{-3}$ o $W \cdot m^{-2} \cdot Hz^{-1}$	Habitualmente se mide en $W \cdot m^{-2} \cdot nm^{-1}$

Cuadro 2.2. Unidades utilizadas en fotometría.

Magnitud fotométrica	Símbolo	Unidad	Abreviatura	Magnitud radiométrica asociada
Cantidad de luz o energía lumínica	Q_v	lumen•segundo	lm•s	Energía radiante
Flujo luminoso o potencia luminosa	F	Lumen (cd•sr)	lm	Flujo radiante o potencia radiante
Intensidad luminosa	I_v	candela	cd	Intensidad radiante
Luminancia	L_v	Candela/metro ²	cd/m ²	Radiancia
Iluminancia	E_v	Lux	lx	Irradiancia
Emitancia luminosa	M_v	Lux	lx	Emitancia

2.2.9. Sistemas de imágenes hiperespectrales

2.2.10. Espectroscopía

En sus inicios el estudio de la espectroscopia solo se preocupaba por la intensidad de la luz (McGucken, 1969). De la medición cuantitativa de ésta, se hizo una rama de la ciencia cada vez más interesante, sin embargo, las investigaciones de Kirchoff y Bunsen a finales de 1850 contribuyeron a que la espectroscopia fuera de interés para la comunidad científica, dando como resultado investigaciones más profundas del espectro electromagnético, cuyo objetivo era inferir la composición química de los objetos. La presencia o ausencia de determinadas líneas espectrales era originalmente el único criterio de análisis. Las líneas espectrales se clasificaron inicialmente por sus posiciones relativas en el espectro y en 1814 Joseph von Fraunhofer las clasificó en

orden alfabético (Jackson, 2000). Enseguida, los ordeno según su valor de longitud de onda. Hacia el final del siglo XIX, los científicos en el área de la espectroscopia astronómica empezaron a describir ciertas líneas espectrales por su apariencia. El interés inicial se centró en la identificación de pequeñas cantidades de materia en lugar de medirlo. Por ejemplo, Kirchhoff y Bunsen, a través de un espectroscopio, calcularon que con aproximadamente la 18 millonésima parte de un grano se podía determinar la presencia de sodio (Lockyer, 1873).

2.2.11. Espectroscopio

La historia de la espectroscopia en imágenes comienza con el espectrómetro de imágenes aerotransportado en los años 1980, desarrollado por el Laboratorio de Propulsión a Chorro y el Instituto de Tecnología en California, Pasadena, Estados Unidos de América. El instrumento utilizaba una cámara conformada por un arreglo de 32 x 32 elementos. En 1983 JPL propuso en ese entonces desarrollar un espectrómetro de imágenes hiperespectrales, llamado AVIRIS el cual fue el primero en su clase. AVIRIS fue el primer espectrómetro calibrado de imágenes en proporcionar datos para la comunidad científica (Goetz, 1995).

La espectroscopia es utilizada en los laboratorios como un método para investigar propiedades de materiales, por medio de la interacción entre la radiación electromagnética con la materia. Ha sido utilizada para investigar la estructura atómica, utilizando líneas de emisión y absorción espectral mostradas por varios elementos, además de análisis químicos de innumerables compuestos y soluciones. El uso de colorímetros para la investigación de colesterol o azúcar en la sangre, por ejemplo, es

una forma de espectroscopia en laboratorios médicos. Otras aplicaciones de esta ciencia son: determinar niveles de alcohol en la sangre, niveles de emisión en automóviles y monitorear contaminación en forma de humo (Wolfe, 1997).

Un espectrógrafo de imágenes es un dispositivo óptico que es capaz de dispersar la luz incidente del espectro electromagnético en diferentes longitudes de onda de forma instantánea, con diferentes regiones espaciales de la superficie del objeto. Además, este dispositivo generalmente opera en modo escaneo lineal, y es el componente principal de los sistemas de imágenes hiperespectrales que adquiere la imagen con el método de barrido lineal. La mayoría de los espectrógrafos de imágenes actuales se construyen en base a rejillas de difracción. Una rejilla de difracción es un conjunto de elementos transmisores reflectantes separados por una distancia comparable a la longitud de onda de la luz bajo investigación. (Palmer, 2005; Aikio, 2001; Sun, 2010).

De acuerdo a Descour y Dereniak (1995) un espectrógrafo de imágenes permite que un conjunto de detectores 2D obtengan un arreglo con una dimensión de longitud Δx y ancho infinito Δy , mientras que simultáneamente se adquiere una dimensión espectral, formando un cubo 3D de datos. El ancho Δy define la resolución espectral, la cual puede verse como Δy en la dirección de eje espectral, como se muestra en la Figura 2.4.

La segunda dimensión espacial del objeto es generada por el escaneo o movimiento del campo de visión del instrumento relativo a la escena, formando las posiciones y_N , y_{N+1} , y_{N+2} .

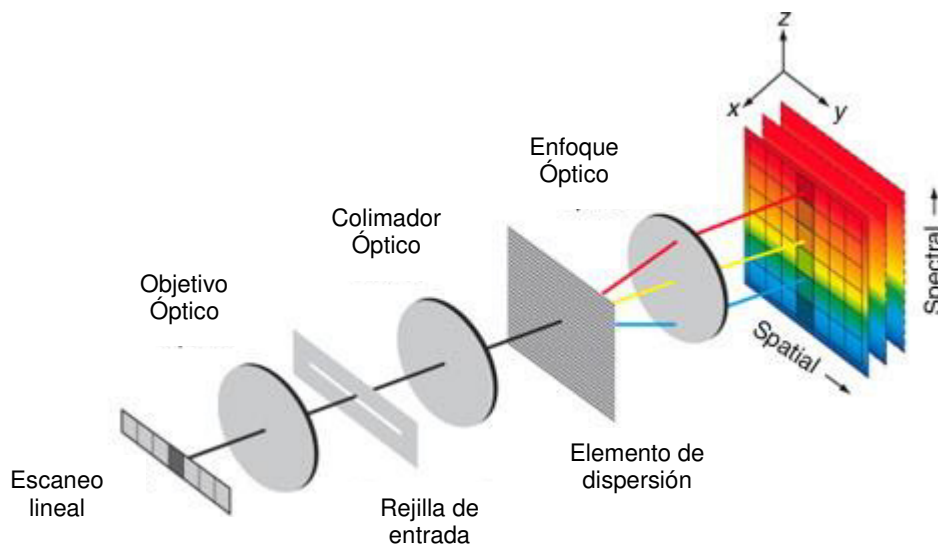


Figura 2.4. Elementos básicos de un espectrógrafo de procesamiento de imágenes con la óptica de entrada y generación del cubo de datos 3D: espacio coordenado (x , y) y las dimensiones espectrales. Fuente: Engineering Exchange, 2018.

2.2.12. Firma espectral

Las imágenes hiperespectrales explotan el hecho que la diferencia en la composición química y estructura física inherente a los materiales, reflejan, dispersan, absorben y emiten energía electromagnética en patrones distintivos en longitudes de onda específicas. Esta característica se llama firma espectral o huella espectral, o simplemente espectro. Cada elemento de la imagen hiperespectral (píxel) contiene su propia firma espectral. En principio, la firma espectral se puede utilizar para caracterizar de forma única, identificar y discriminar por clase o tipo cualquier objeto dado en una banda lo suficientemente amplia (Shaw y Manolakis, 2002).

2.3. Materiales y métodos

2.3.1. Material biológico

El material biológico utilizado en este experimento fue el siguiente.

2.3.1.1. *Salmonella typhimurium*

Para el desarrollo de este experimento se utilizó la bacteria *Salmonella typhimurium*, en estado de crioconservación, dentro de un tubo con agar Mueller Hinton. El microorganismo fue activado colocando una pequeña porción de colonia con un asa bacteriológica, dentro de un tubo de ensayo conteniendo 10 ml de medio líquido de caldo de infusión de cerebro corazón; previamente esterilizado en autoclave por 15 min a 15 libras de presión y 120 ° C. La incubación de *S. typhimurium* se llevó por 24 horas a 35°C.

2.3.1.2. Muestras de tomate

Se seleccionaron cuatro tomates variedad roma (*Solanum lycopersicum* L) en estado de postcosecha, los cuales fueron adquiridos en un supermercado local del municipio de General Escobedo, Nuevo León, México. El tomate debe cumplir con alta calidad visual.

2.3.2. Material para identificación del género *Salmonella*.

2.3.2.1. Medios para el aislamiento selectivo

Los medios selectivos fueron agar *Salmonella-Shigella* (agar SS), entérico *Hektoen* y XLD (Xylose Lysine Desoxycholate Agar). La técnica de siembra y aislamiento que se utilizó es la de estría, para poder visualizar y seleccionar las colonias sospechosas con mayor facilidad, este procedimiento se realizó por triplicado (procedimiento realizado por el laboratorio de Microbiología de la FMVZ-UANL).

2.3.2.2. Configuración del sistema

El primer paso en la configuración del sistema fue la conexión virtual entre la cámara y el equipo de cómputo, el controlador Vimba proporcionado por la compañía Allied Vision Technologies GmbH, el cual es un paquete o kit de desarrollo de software capaz de soportar diferentes lenguajes de programación como: C, C++, .NET y MATLAB. El paquete VIMBA proporciona el software visor AVT Vimba, el cual se utilizó para comprobar el correcto funcionamiento de la cámara. La Figura 2.5. muestra una imagen con este visor de imágenes. El Apéndice 1.2 muestra los códigos de la plataforma MATLAB.

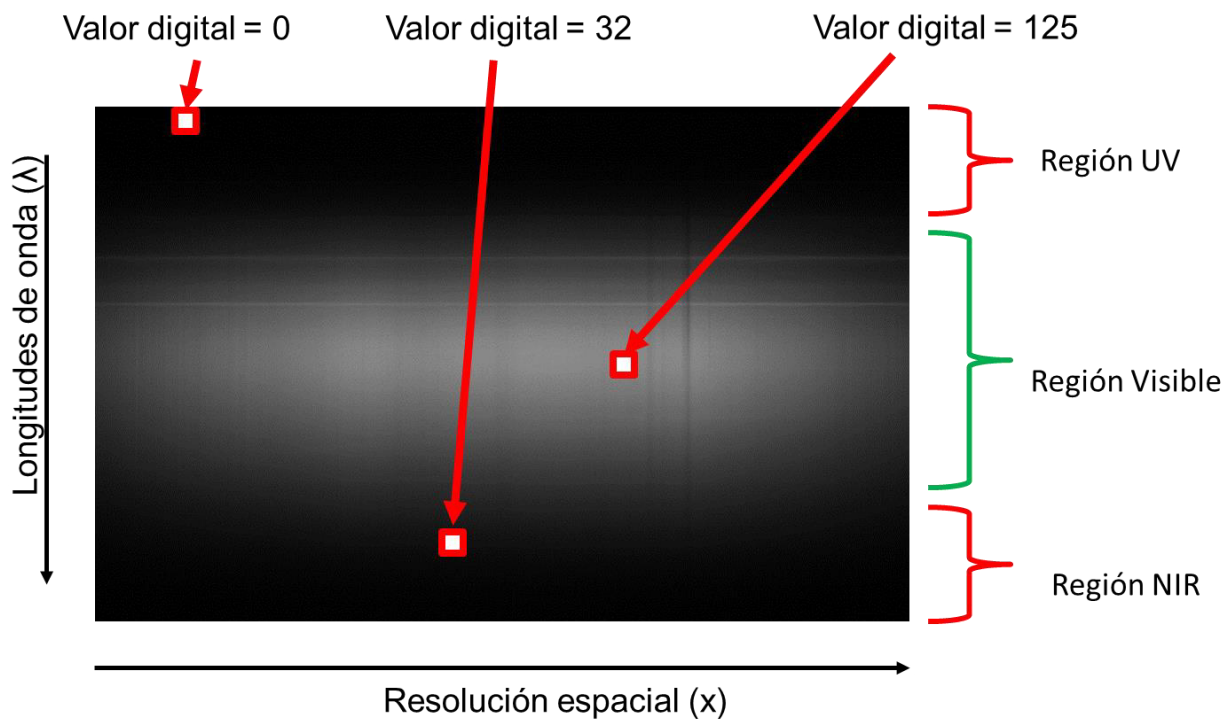


Figura 2.5. Imagen mostrada por el software visor Vimba.

2.3.3. Desarrollo del experimento

El experimento se desarrolló de acuerdo a la Figura 2.6., se marcaron tomates para *Salmonella typhimurium*, donde en cada tomate se dibujó con un plumón permanente un cuadrado de 1 cm², cada cuadrado se inoculó con 2, 4 y 6 μ L de la bacteria.

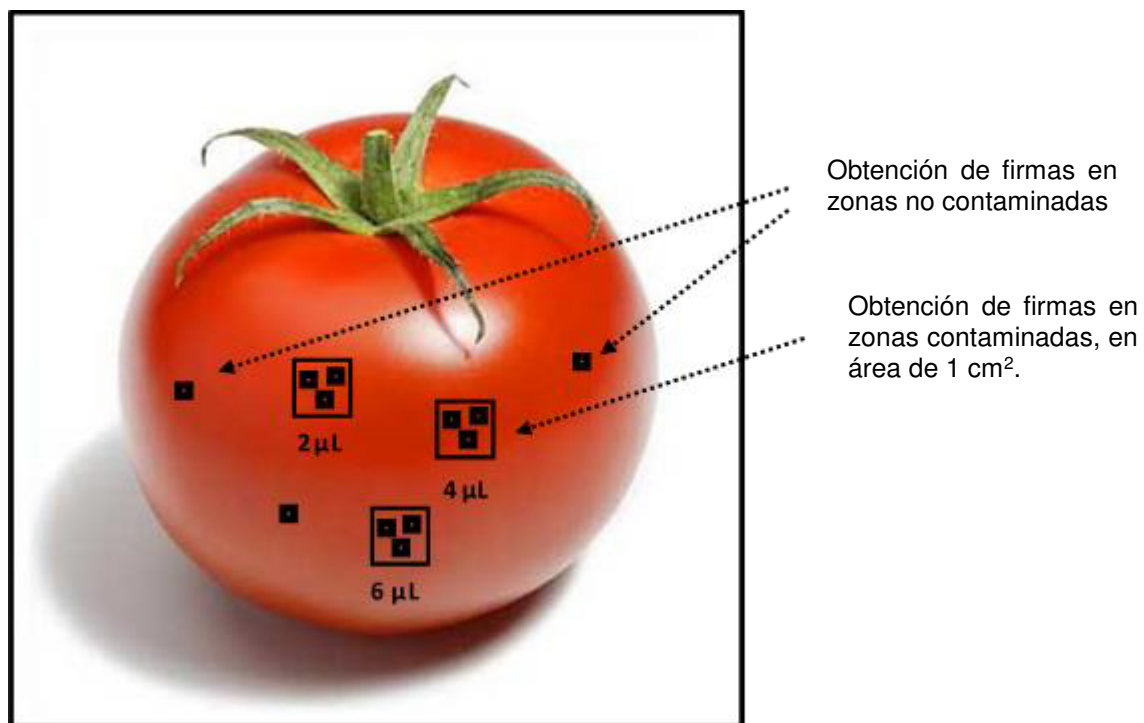
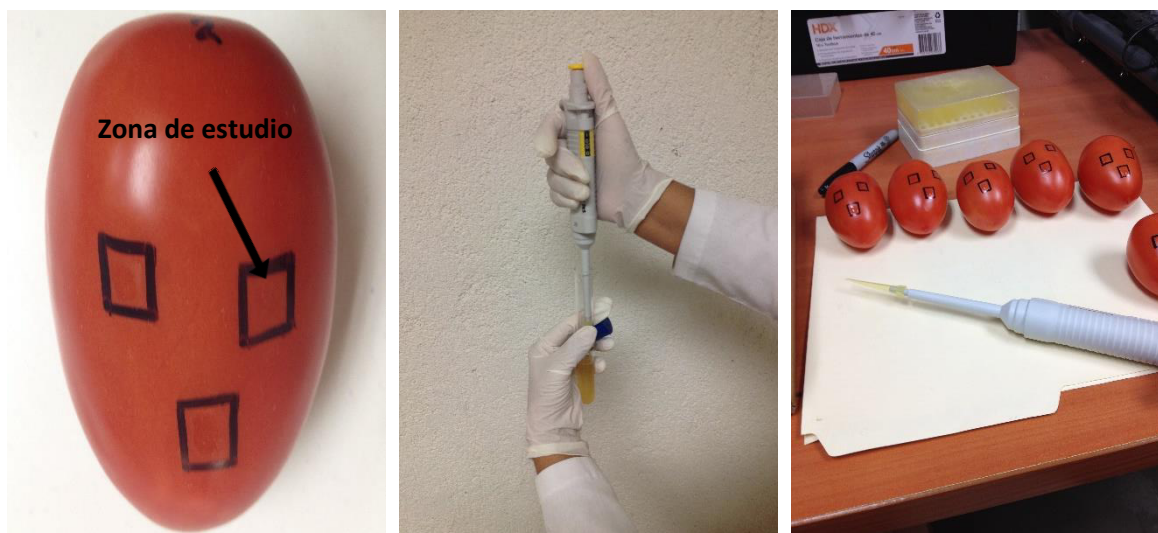


Figura 2.6. Esquema de la propuesta del experimento para la inoculación de la bacteria sobre la superficie de un tomate.

2.3.3.1. Inoculación de tomate con *Salmonella typhimurium*

Los tomates se marcaron de forma rectangular con área de un cm², como se muestra en la Figura 2.7.a, se extrajeron diez µl de *Salmonella typhimurium* con ayuda de una micropipeta de precisión (Figura 2.7.b), Por último, se distribuyó la gota en la superficie cuidando de no traspasar los bordes (Figura 2.7.c).



a)

b)

c)

Figura 2.7. a) Tomate que presenta área la cual será estudiada, b) extracción de diez μl de *Salmonella typhimurium*, c) distribución de una gota en la superficie con ayuda de la puntilla de la micropipeta.

2.3.3.2. Adquisición de imágenes hiperespectrales con MATLAB

En la Figura 2.8. se observa el diagrama de flujo del proceso para realizar la adquisición de las imágenes, mientras que el Apéndice 1 muestra el código del programa de cómputo.

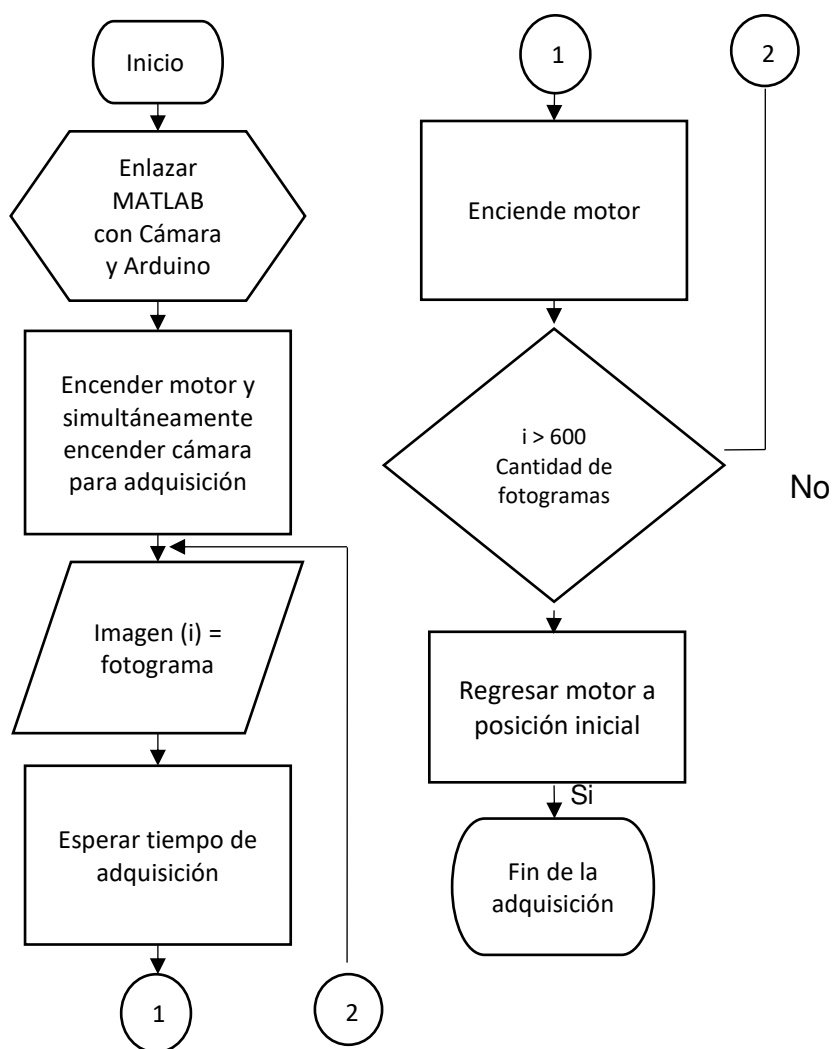


Figura 2.8. Diagrama de flujo del programa para la adquisición de imágenes.

Para la reconstrucción de la imagen se toman todos los valores de una fila. Cada fila es una longitud de onda específica que se puede calcular a partir de la ecuación proporcionada por el fabricante, la cual se observa en la Ecuación 5. Por lo tanto, la nueva imagen tendrá por coordenadas $(:,Y)$, donde $(:)$ significa todos los valores de x de la imagen previa, (Y) la longitud de onda que se desea utilizar.

$$\lambda = (4.2728e^{-0.05})y^2 + 0.66802y + 327.987 \quad \text{Ec. (5)}$$

Donde:

λ = Longitud de onda, nm.

y = Coordenada y de la imagen (entre 1 y 1080).

Así, por ejemplo, al seleccionar la fila 500, la longitud de onda correspondiente es de 672.67 nm.

El barrido o escaneo lineal se realizó en los 4 tomates, tal como se muestra en el Cuadro 2.3., dejando un periodo de reposo, para que las bacterias pudieran reproducirse, el escaneo 1 se tomó a las 9:07 am, y luego se dio un tiempo de 30 minutos, 4 horas, 4 horas, 4 horas y 14 horas, para los escaneos 2, 3, 4, 5 y 6, respectivamente.

Cuadro 2.3. Periodos para la toma de las imágenes hiperespectrales.

Tomate	Escaneo 1	Escaneo 2	Escaneo 3	Escaneo 4	Escaneo 5	Escaneo 6
1	09:07 a. m.	09:37 a. m.	01:37 p. m.	05:37 p. m.	09:50 p. m.	01:00 p. m.
2	09:09 a. m.	09:40 a. m.	01:42 p. m.	05:43 a. m.	09:54 p. m.	01:05 p. m.
3	09:11 a. m.	09:43 a. m.	01:46 p. m.	05:50 a. m.	10:00 p. m.	01:10 p. m.
4	09:13 a. m.	09:49 a. m.	01:51 p. m.	05:54 a. m.	10:08 p. m.	01:15 p. m.

2.3.3.3. Creación de la firma espectral.

El código del programa se muestra en el Apéndice 2, mientras que el diagrama de flujo aparece en la Figura 2.9. El valor del % de reflexión se obtiene directamente de un

píxel con coordenadas fijas, provenientes de las 600 imágenes adquiridas. El cálculo de λ se realiza en esta parte del programa, utilizando la Ecuación 1. La cámara no fue iluminada en la región ultravioleta, por lo que en esta zona (300 – 420 nm) la curva tiene una amplitud de cero.

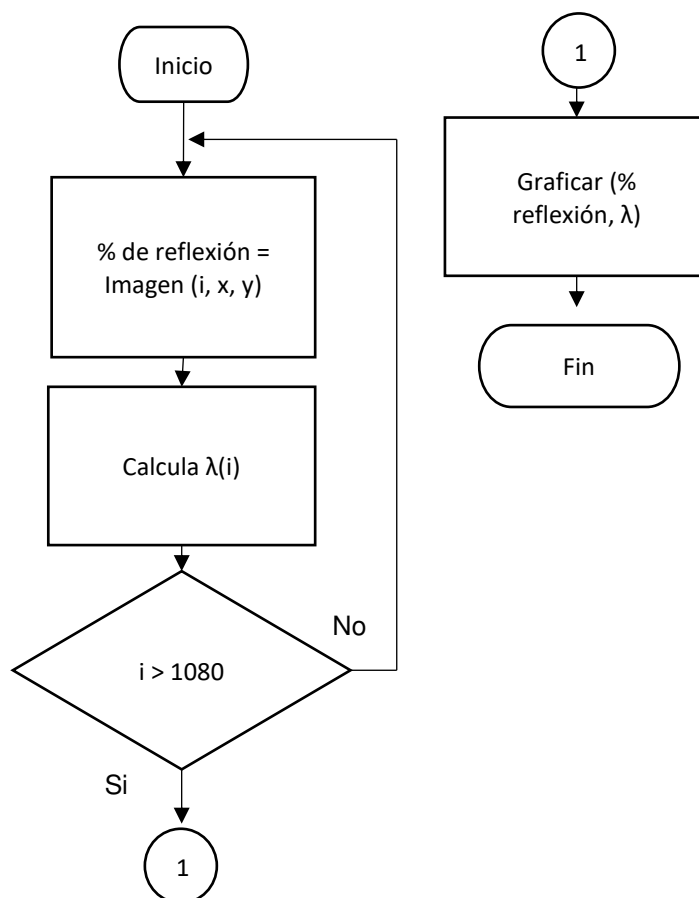


Figura 2.9. Diagrama de flujo para la creación de la firma espectral.

2.3.4. Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales fue realizado en la plataforma de MATLAB (lenguaje de alto nivel y entorno interactivo para el cálculo numérico, la visualización y la programación). El primer paso en la construcción del programa fue asignar una

matriz X de dos dimensiones donde la columna 1 se le asignó los valores de % de reflexión y en la columna dos longitudes de onda (λ). Como segundo paso, se realizó la extracción de la media para cada dimensión, esto proporcionó un conjunto de datos con media cero. El código del programa computacional se encuentra en el Apéndice 3.

El tercer paso en el desarrollo del programa consistió en calcular la matriz de covarianza, al tratarse de una matriz de 2 dimensiones, se utilizó la Ecuación 6.

$$C = \begin{pmatrix} \text{cov}(x, x) & \text{cov}(x, y) \\ \text{cov}(y, x) & \text{cov}(y, y) \end{pmatrix} \quad \text{Ec. (6)}$$

Donde:

C = Matriz de covarianza

x = Longitudes de onda (λ) nm

y = Porcentaje (%) de reflexión

El cálculo de los valores propios (eigenvectores y eigenvalores) se realizó en el cuarto paso, el algoritmo utilizado para realizar el computo fue a través del método de descomposición de valor singular (Richardson, 2009), el cual obtiene tres matrices, que se muestran en la Ecuación 7.

$$A = U \Sigma V^T \quad \text{Ec. (7)}$$

Donde:

$U \in \mathbb{R}^{n \times n} =$ Matriz ortonormal de dimensión $n \times n$

$\Sigma \in \mathbb{R}^{n \times m} = \text{Matriz diagonal de } n \times m$

$V \in \mathbb{R}^{m \times m} = \text{Matriz ortonormal } m \times m$

Como quinto y último paso se extrajeron los valores propios de la matriz V donde se encontraban los eigenvectores, los cuales corresponden al componente principal uno y dos. El propósito de esta metodología es proyectar en los valores propios del sistema (cambiar el eje coordenado a uno nuevo) los datos que se ajusten al comportamiento de la componente principal (Smith, 2002).

2.3.5. Estructura

2.3.5.1. Motor de Corriente Alterna

Se utilizó un motor trifásico de 372.85 Watts (0.5 HP), el cual proporcionó la potencia necesaria para mover la banda transportadora. En el eje del motor eléctrico se acopló un engranaje piñón de 15 dientes para transmitir movimiento a una cadena, la cual fue acoplada a un tambor giratorio.

2.3.5.2. Variador de frecuencia

El sistema desarrollado cuenta con un variador de frecuencia GS1 de entrada 120 V: 0.25- 0.5 HP, de la marca Automation Direct. El cual regula la frecuencia con la que gira el motor de AC, con un rango de 0 – 60 Hz. El dispositivo cuenta con entradas analógicas (AI), entradas digitales (D11, D12, D13, D14) para el control de encendido y sentido del giro del motor. La Figura 2.10. muestra los aspectos principales del variador GS1.



Figura 2.10. Variador de frecuencia GS1, para controlar velocidad de motor.

2.3.6. Estructura mecánica

La estructura mecánica integra una banda de color blanco en la cual se coloca la muestra a analizar, un sistema de transmisión de potencia piñón-cadena, y un soporte en forma rectangular para la cámara, sus dimensiones se indican en la Figura 2.11 y un soporte en forma rectangular para la cámara.

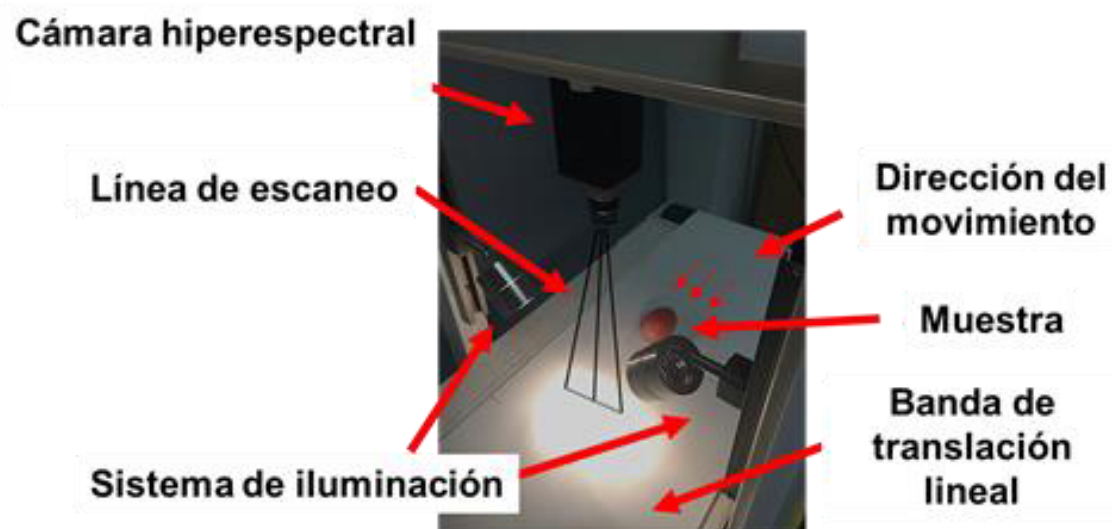


Figura 2.11. Estructura del sistema de imágenes hiperespectrales.

2.3.7. Iluminación

El sistema de iluminación hiperespectral se compone de dos bulbos de la marca Philip capacidad de 100 W, con filamento de tungsteno encapsulado en gas halógeno (Figura 2.12.).



Figura 2.12. Lámpara tungsteno – halógeno.

2.3.8. Cámara hiperespectral

El sistema consta de una cámara Pike F-210By un espectrógrafo V10E capaces de capturar imágenes de una elevada resolución espacial de 1920x1080 píxeles, con un rango espectral de 400 a 1000 nm con intervalos de 2.8 nm y una ranura de 30 μm . La cámara montada al sistema mecánico y de iluminación se observa en la Figura 2.13.

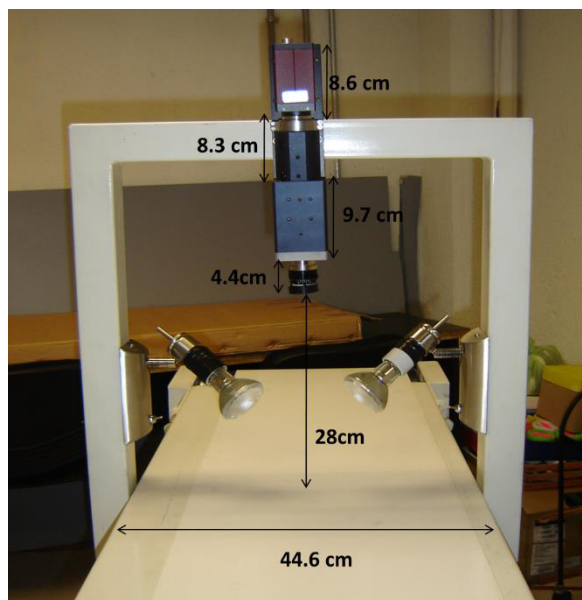


Figura 2.13. Montaje de la cámara y el sistema de iluminación.

La cámara cuenta, además, con un protocolo de comunicación IEEE 1394b –FireWire 800, con un conector de comunicación de 9 pines, velocidad de operación 800 Mbit s⁻¹, alcanzando velocidades de adquisición de 32 fotogramas cada segundo.

2.4. Resultados y discusión

2.4.1. Firma hiperespectral.

En la Figura 2.14. se muestra la firma hiperespectral de un tomate antes de ser contaminarlo con *Salmonella typhimurium*.

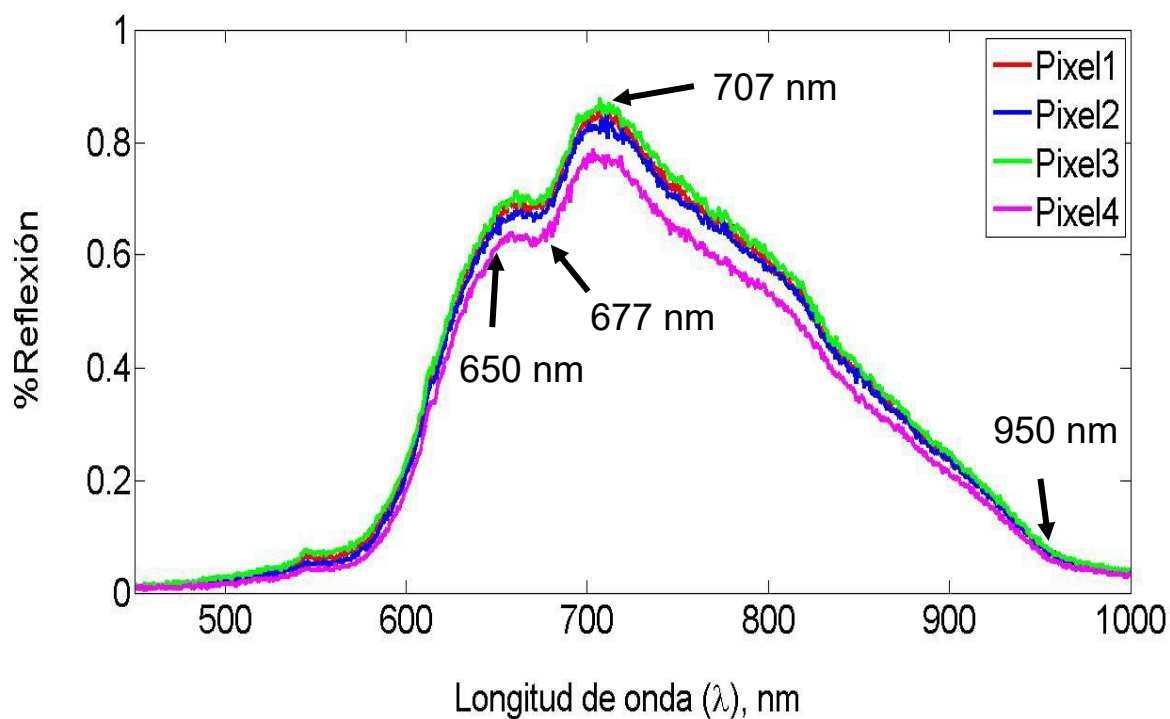


Figura 2.14. Firma hiperespectral de un tomate sin contaminar con coordenadas: Píxel1 (829, 311), Píxel2 (834, 316), Píxel3 (824, 306), Píxel4 (839, 354).

Se observa que el perfil de la curva tiene su máxima amplitud en 707 nm, correspondiente al color rojo. La máxima amplitud alcanzada fue de 0.87 % de

reflexión. Asimismo, se observa una pequeña zona constante entre los 650 – 677 nm con un valor aproximado de 0.7 % de reflexión, esto se debe que el tomate tiene cierta cantidad de color verde. A partir de los 715 nm se observa que la firma hiperespectral decrece de forma constante, comportándose como una línea recta con pendiente negativa, este comportamiento es hasta la longitud de onda de 950 nm.

Por otra parte, en la Figura 2.15. se muestra la firma espectral del mismo tomate 12 horas después de haber sido contaminado, permitiendo el crecimiento de la bacteria. Se generó la firma hiperespectral a partir de un píxel dentro de la zona contaminada con coordenadas (870, 394). El píxel es representado por la línea de color rojo y se observa que la longitud de onda 707 nm tiene una amplitud de 0.71 % de reflexión, mientras que en los otros píxeles analizados la firma espectral incremento en su amplitud. El píxel con coordenadas (880, 274), representado por la línea de color magenta, tuvo la máxima amplitud con 0.9412 % de reflexión cuando la longitud de onda fue de 704 nm. La parte constante fue en la zona de 652 – 680 nm con una amplitud promedio de 0.6 % de reflexión para la firma del píxel contaminado y una amplitud de 0.76 % de reflexión para la máxima amplitud registrada (firma representada por la línea de color magenta). También, existe un comportamiento decreciente (con una pendiente negativa) que empieza a una longitud de onda de 705 nm y se estabiliza en 968 nm.

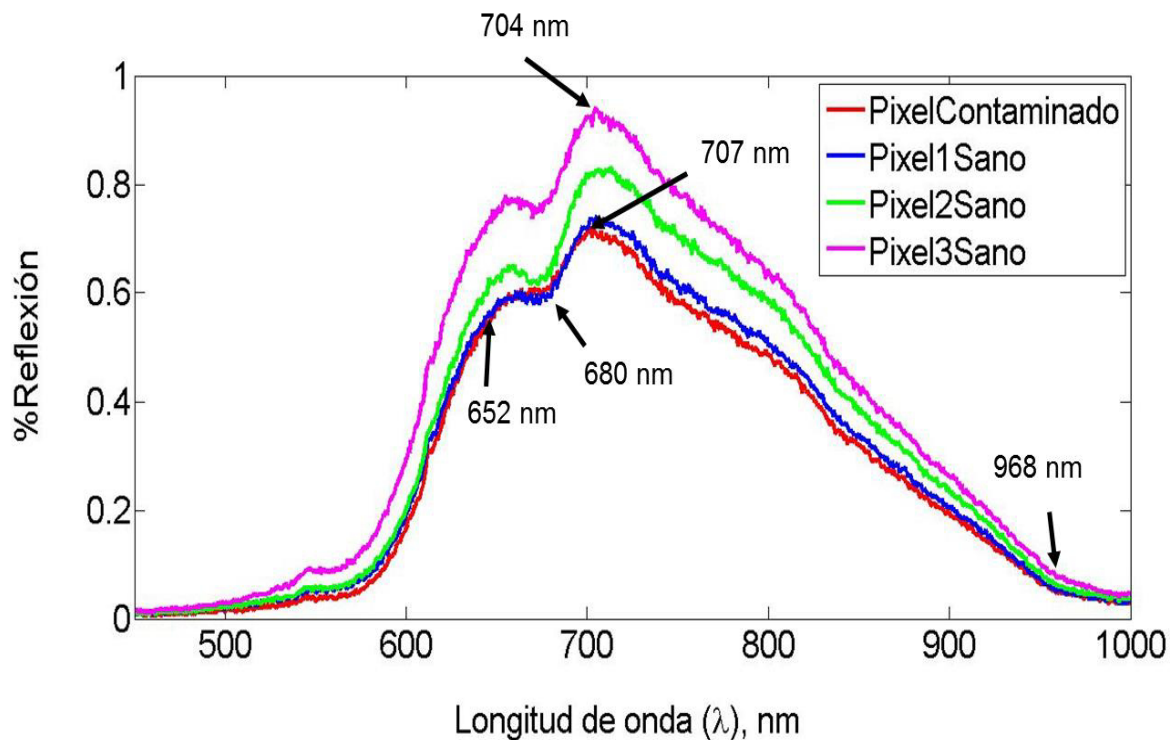


Figura 2.15. Firma hiperespectral de un tomate contaminado, donde el % de reflexión decreció en la zona contaminada.

2.4.2. Hipercubo.

Se utilizaron las longitudes de onda más significativas, las cuales fueron 652, 704 y 707 nm, para reconstruir las imágenes que se muestran en la Figura 2.16. La longitud de onda 637 nm fue utilizada como control.

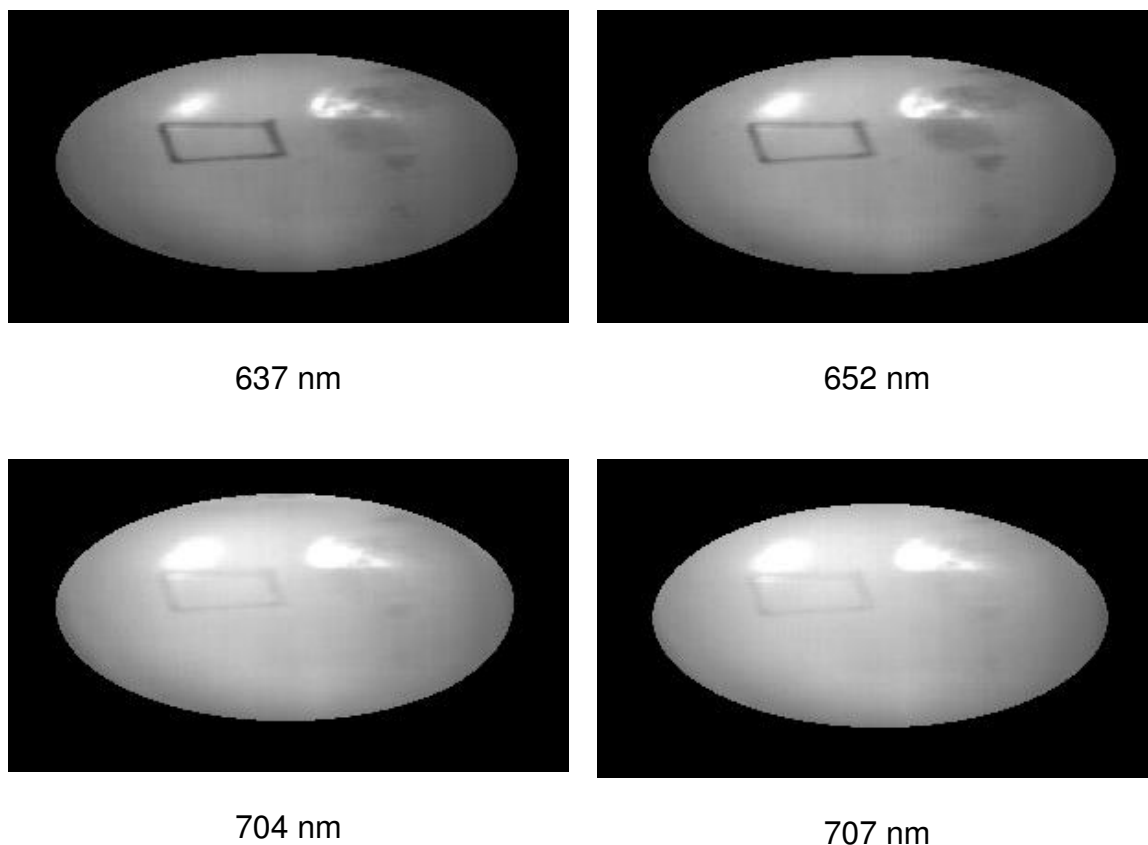


Figura 2.16. Fotogramas en longitudes de onda específica.

En las longitudes de onda 637 y 652 nm se presenta absorción de luz en la parte superior del tomate, esto es interpretado como hematomas o golpes superficiales, los cuales se muestran en forma de manchas en las imágenes hiperspectrales. El píxel contaminado (870, 394) se encuentra dentro de la zona delimitada por el cuadro de un cm^2 , se observa poca diferencia significativa de forma visual en las diferentes longitudes de onda.

Para la formación del hipercubo se realizó el análisis de 600 imágenes adquiridas en diferentes longitudes de onda (400 – 1000 nm). Ciertas imágenes no pudieron ser reconstruidas debido a su baja reflexión en el rango cercano al ultravioleta (330 – 400 nm) y en la zona cercana al infrarrojo (700 – 1000nm). Las imágenes no reconstruidas

tuvieron valores menores del 0.1 % de reflexión. Estos inconvenientes se atribuyen al tipo de iluminación utilizada, la cual fue proporcionada por una lámpara de halógeno – tungsteno de 100 Watts.

2.4.3. Análisis de componentes principales en la detección de *Salmonella typhimurium* en tomate

La Figura 2.17. muestra la proyección de los datos de un tomate no contaminado en sus dos componentes principales, vemos que la componente principal 1 (marcada en verde) es la componente donde se ajusta casi la totalidad de los datos. La escala de los ejes (*PC 1* y *PC 2*) muestra tamaño muy pequeño (de orden 10^{-11} y 10^{-13}), esta información demuestra la poca variabilidad entre las variables % reflexión en relación a la longitud de onda (λ). La componente *PC 2* (línea roja) tiene casi nula participación en la proyección de los datos en su eje, y presenta una pendiente positiva, la participación de ambas componentes se muestra en la Figura 2.18.

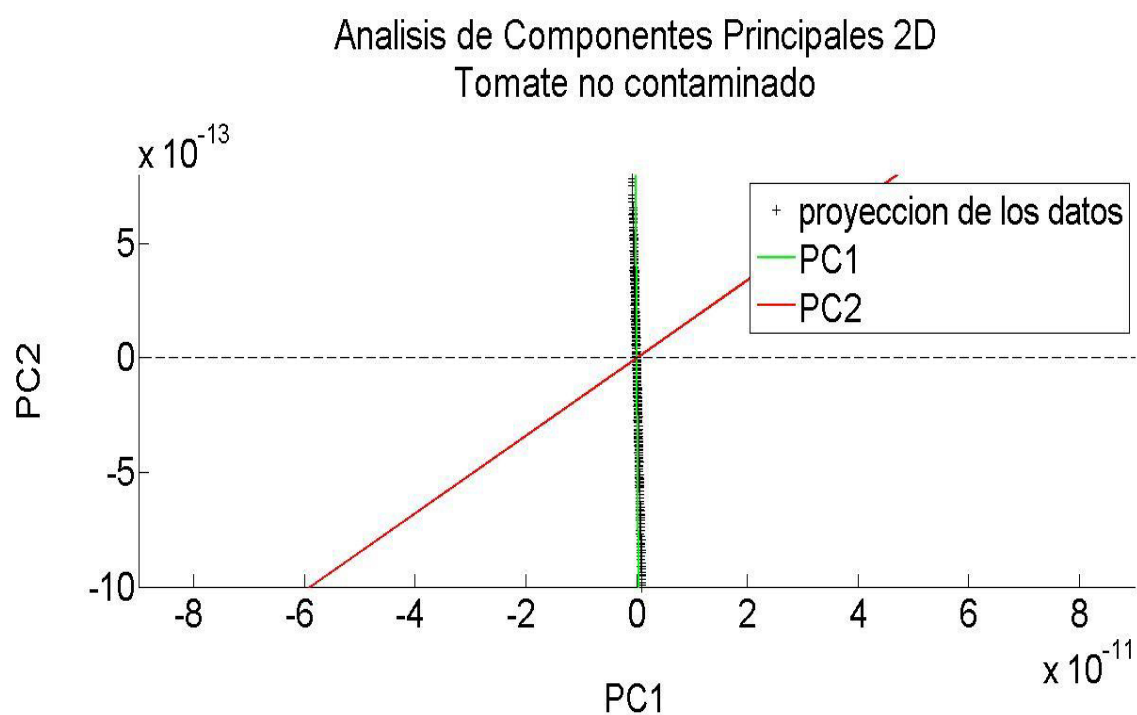


Figura 2.17. Análisis de componentes principales aplicado a tomate no contaminado.

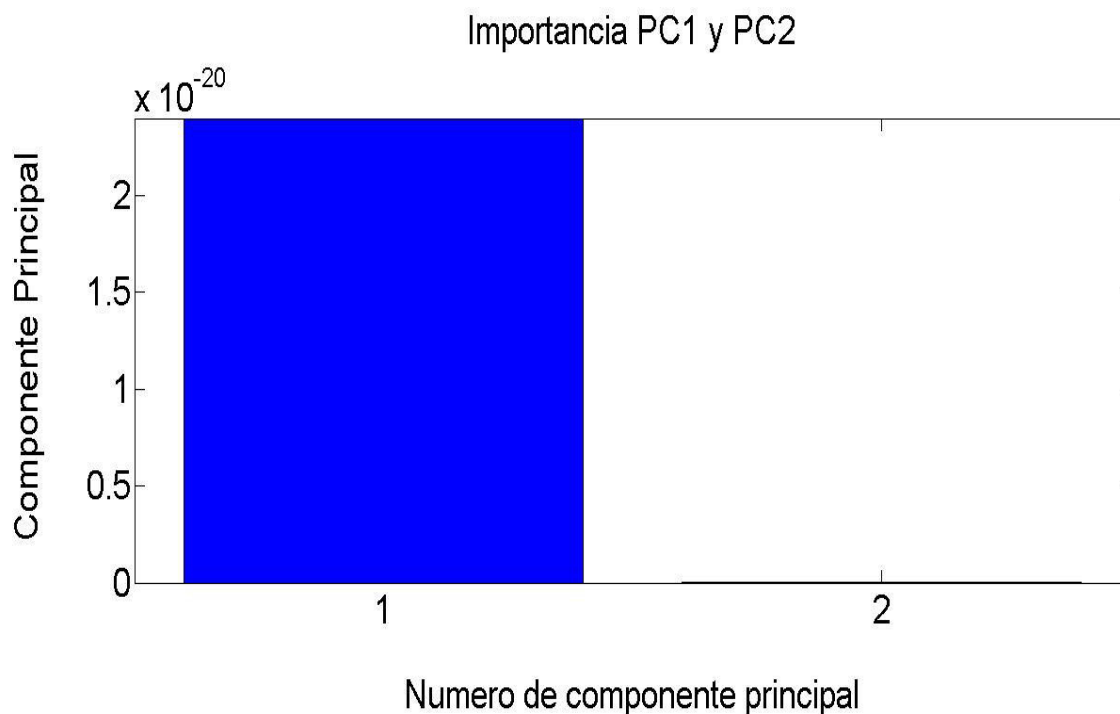


Figura 2.18. La componente 1 (PC 1) tiene agrupados a la mayoría de los datos, mientras que la componente 2 (PC 2) tiene poca participación.

En la aplicación del análisis de componentes principales a la zona contaminada de tomate, se obtuvo la Figura 2.19., en la cual se observa que la componente 2 (*PC 2*) tiene pendiente negativa; además, también es evidente que la gran mayoría de datos se ajusta a la componente 1 (*PC 1*).

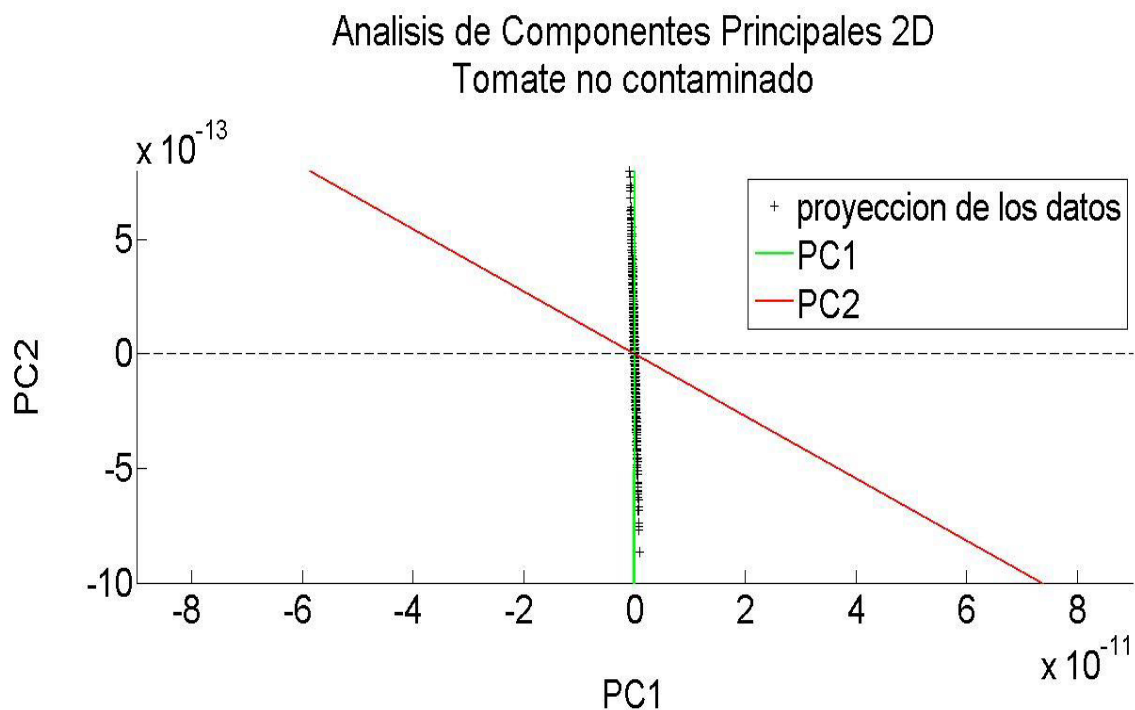


Figura 2.19. Análisis de componentes principales aplicado a tomate contaminado.

La participación de ambas componentes se muestra en la Figura 2.20. donde es notable el gran peso de la componente 1, pero a diferencia de la Figura 2.18. la componente 2 (*PC 2*) presenta una mayor concentración de datos.

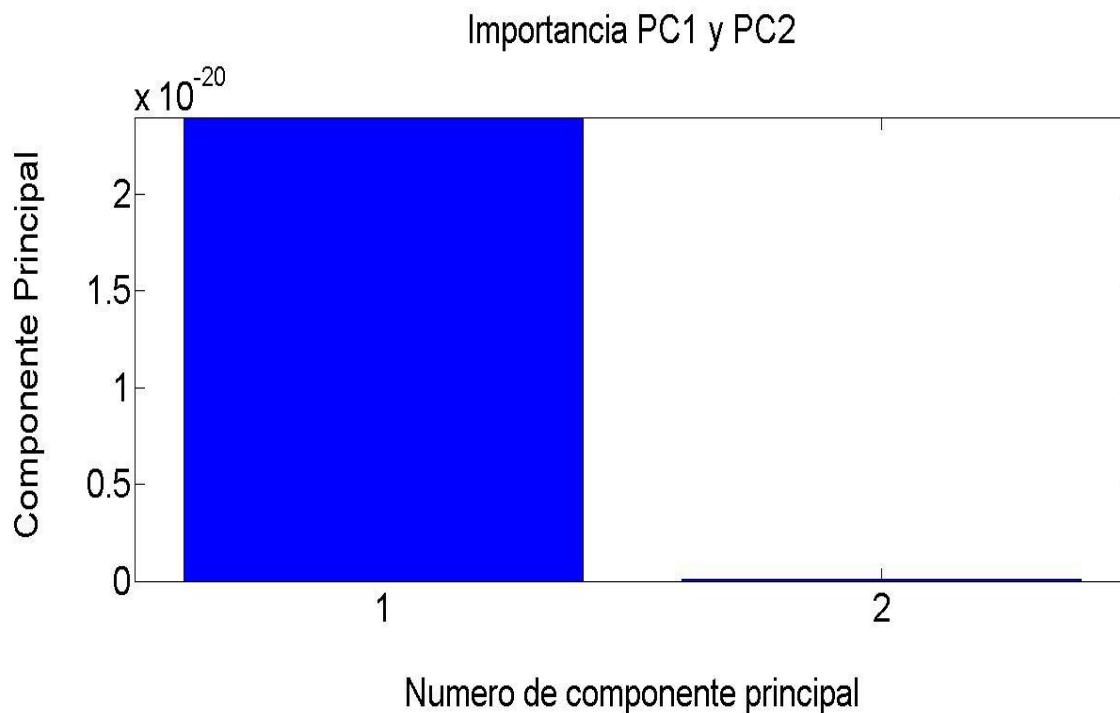


Figura 2.20. La componente principal dos (PC 2) tiene mayor concentración de datos.

2.5. Conclusiones y recomendaciones

Las firmas espectrales mostradas en las Figuras 2.17. y 2.19. muestran que en la longitud de onda específica de 707 nm pueden ser utilizadas como indicador para la detección de *Salmonella typhimurium*, ya que se encontró un decremento de 0.17 % de reflexión entre la firma sin contaminar y la firma adquirida 12 horas después de ser contaminada. En las zonas no contaminadas la firma espectral tuvo mayor reflexión en la región de los 680 a 720 nm, esto fue como resultado de la maduración del fruto de

tomate, el cual pasó de un color rojo, con poca presencia de verde, a un color rojo intenso.

Los análisis realizados en las imágenes de la Figura 2.16., con longitudes de onda específica, mostraron poca variación de reflexión en la zona afectada por *Salmonella typhimurium*, esto ocurrió debido a la ausencia de una fuente de poder adecuada para regular y mantener un suministro de energía que alcance una mayor eficiencia de energía cuántica en el espectro más amplio posible.

En la aplicación del análisis de componentes principales en fruto de tomate contaminado y sin contaminar, la componente 2 con pendiente negativa, puede ser considerada como un indicador de la presencia de *Salmonella typhimurium*. Además, respecto a la aglomeración de los datos agrupados por cada componente, se observa mayor participación de la componente 2. Estos comportamientos se pueden interpretar como patrones en la clasificación de tomates contaminados y sin contaminar.

2.6. Referencias

- Amigo, J. M., Babamoradi, H., and Elcoroaristizabal, S. 2015. Hyperspectral image analysis. A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 896, 34–51.
- Ariana, D. P., and Lu, R. 2010. CHAPTER 14 – Hyperspectral Imaging for Defect Detection of Pickling Cucumbers. In *Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control*, p.431–447.
- Atkins, P.W., Jones, L. 2012. Principios de química: los caminos del descubrimiento. 5ta edición. Editorial Médica Panamericana. pp. 1052.
- Bannon, D. 2009. Hyperspectral imaging: Cubes and slices. *Nature Photonics*, 3(11), 627.
- Bhunja, A. K., Banada, P., Banerjee, P., Valadez, A., and Hirleman, E. D. 2007. Light scattering, fiber optic-and cell-based sensors for sensitive detection of foodborne pathogens. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 15(2), 121–145.
- Cen, H., and He, Y. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 18(2), 72–83.
- Cheng, J.-H., and Sun, D.-W. 2015. Rapid and non-invasive detection of fish microbial spoilage by visible and near infrared hyperspectral imaging and multivariate analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 1060–1068.
- Echeita, M. A., Aladueña, A. M., de la Fuente, M., González-Sanz, R., Díez, R., Arroyo, M., ... Herrera, S. 2012. Análisis de las cepas de *Salmonella* spp aisladas de muestras clínicas de origen humano en España. Años 2004 y 2005 (I). *Boletín Epidemiológico Semanal*, 15(13), 145–148.

- Engineering Exchange. 2018. Annual 10.9% Growth expected for Global Hyperspectral Imaging System Market by 2022. (Disponibile en: <https://www.engineeringexchange.com/profiles/blogs/annual-10-9-growth-expected-for-global-hyperspectral-imaging>).
- ElMasry, G., Wang, N., ElSayed, A., and Ngadi, M. 2007. Hyperspectral imaging for nondestructive determination of some quality attributes for strawberry. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 98–107.
- Foca, G., Ferrari, C., Ulrici, A., Sciutto, G., Prati, S., Morandi, S., Oliveri, P. 2016. The potential of spectral and hyperspectral-imaging techniques for bacterial detection in food: A case study on lactic acid bacteria. *Talanta*, 153, 111–119.
- G. Polder, G. W. A. M. van der Heijden, and I. T. Young. 2002. Spectral image analysis for measuring ripeness of tomatoes. *Transactions of the ASAE*, 45(4), 1155–1161.
- Geladi, P., and Esbensen, K. 1989. Can image analysis provide information useful in chemistry? *Journal of Chemometrics*, 3(2), 419–429.
- Gowen, A. A., O'Donnell, Cp., Cullen, P. J., Downey, G., and Frias, J. M. 2007. Hyperspectral imaging—an emerging process analytical tool for food quality and safety control. *Trends in Food Science and Technology*, 18(12), 590–598.
- Gowen, A. A., Taghizadeh, M., and O'Donnell, C. P. 2009. Identification of mushrooms subjected to freeze damage using hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 93(1), 7–12.
- Green, R. O., Eastwood, M. L., Sarture, C. M., Chrien, T. G., Aronsson, M., Chippendale, B. J., ... Solis, M. 1998. Imaging spectroscopy and the airborne visible/infrared imaging spectrometer (AVIRIS). *Remote Sensing of Environment*, 65(3), 227–248.
- Grimont, P. A. D., and Weill, F.-X. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 9, 1–166.
- He, H. J., and Sun, D. W. 2015. Selection of informative spectral wavelength for evaluating and visualising Enterobacteriaceae contamination of salmon flesh.

- Food analytical methods, 8(10), 2427-2436.
- Huang, H., Liu, L., and Ngadi, M. O. 2014. Recent developments in hyperspectral imaging for assessment of food quality and safety. *Sensors*, 14(4), 7248–7276.
- Iqbal, A., Sun, D., and Allen, P. 2014. An overview on principle, techniques and application of hyperspectral imaging with special reference to ham quality evaluation and control. *Food Control*, 46, 242–254.
- Jackson, M. W. (2000). *Spectrum of belief: Joseph von Fraunhofer and the craft of precision optics*. Mit Press, 296 pages.
- Kapach, K., Barnea, E., Mairon, R., Edan, Y., and Ben-Shahar, O. 2012. Computer vision for fruit harvesting robots—state of the art and challenges ahead. *International Journal of Computational Vision and Robotics*, 3(1/2), 4–34.
- Kim, M. S., Lefcourt, A. M., Chao, K., Chen, Y. R., Kim, I., and Chan, D. E. 2002. Multispectral Detection of Fecal Contamination on Apples based on Hyperspectral Imagery: Part I. Application of Visible and Near-Infrared Reflectance Imaging. *Transactions of the ASAE*, 45(6), 2027–2037.
- Kruse, F. A., Lefkoff, A. B., Boardman, J. W., Heidebrecht, K. B., Shapiro, A. T., Barloon, P. J., and Goetz, A. F. H. 1993. The spectral image processing system (SIPS)-interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data. *Remote Sensing of Environment*, 44(2–3), 145–163.
- Lu, G., and Fei, B. 2014. Medical hyperspectral imaging: a review. *Journal of Biomedical Optics*, 19(1), 010901.
- Mehl, P. M., Chen, Y.-R., Kim, M. S., and Chan, D. E. 2004. Development of hyperspectral imaging technique for the detection of apple surface defects and contaminations. *Journal of Food Engineering*, 61(1), 67–81.
- Park, B., Windham, W. R., Lawrence, K. C., and Smith, D. P. 2007. Contaminant Classification of Poultry Hyperspectral Imagery using a Spectral Angle Mapper Algorithm. *Biosystems Engineering*, 96(3), 323–333.

- Peng, Y., and Lu, R. 2008. Analysis of spatially resolved hyperspectral scattering images for assessing apple fruit firmness and soluble solids content. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 52–62.
- Qiao, J., Ngadi, M. O., Wang, N., Gariépy, C., and Prasher, S. O. 2007. Pork quality and marbling level assessment using a hyperspectral imaging system. *Journal of Food Engineering*, 83(1), 10–16.
- Qin, J. 2010. Hyperspectral imaging instruments. In *Hyperspectral imaging for food quality analysis and control* (pp. 129-172).
- Qin, J., Burks, T. F., Ritenour, M. A., and Bonn, W. G. 2009. Detection of citrus canker using hyperspectral reflectance imaging with spectral information divergence. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 183–191.
- Rodríguez, F. I., Pascal, D. C., Pulido, D., Osinalde, J. M., Caffer, M. I., and Bueno, D. J. 2018. Prevalence, antimicrobial resistance profile and comparison of selective plating media for the isolation of *Salmonella* in backyard chickens from Entre Rios, Argentina. *Zoonoses and Public Health*, 65(1): 95–101.
- Sensors Unlimited. 2018. What is InGaAs?. (Disponible en: <http://www.sensorsinc.com/technology/what-is-ingaas>).
- Wang, L., Gao, K., Cheng, X., Wang, M., and Miu, X. 2012. A Hyperspectral Imagery Anomaly Detection Algorithm Based on Gauss-Markov Model. 2012 Fourth International Conference on Computational and Information Sciences, p.135–138.
- White, J. D., Running, S. W., Nemani, R., Keane, R. E., and Ryan, K. C. 1997. Measurement and remote sensing of LAI in Rocky Mountain montane ecosystems. *Canadian Journal of Forest Research*, 27(11), 1714–1727.
- Xing, J., Saeys, W., and De Baerdemaeker, J. 2007. Combination of chemometric tools and image processing for bruise detection on apples. *Computers and Electronics in Agriculture*, 56(1), 1–13.
- Yang, H., Du, Q., Su, H., and Sheng, Y. 2011. An efficient method for supervised hyperspectral band selection. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*,

8(1), 138–142.

Zhang, A., Song, P., and Jiang, L. 2012. Discussion on Advanced Programming Language Courses Grades Teaching in Agricultural and Forestry University, 3, 67–69.

ZW0. 2018. Grafica QE. (Disponibile en: <https://astronomy-imaging-camera.com/product/asi1600mm-cool>).

CAPÍTULO 3. PLATAFORMA ROTATORIA PARA OBTENER LA SUPERFICIE TOTAL DEL EXOCARPO DE FRUTOS DE TOMATE CON IMÁGENES HIPERESPECTRALES

3.1. Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es muy importante para la economía de México, ya que nuestro país es el principal proveedor a nivel mundial de este fruto, con una participación en el mercado internacional de 25.11% del valor de las exportaciones mundiales (SAGARPA, 2017). Además, de las 51,861 hectáreas sembradas en 2016, el 95.70% de la superficie se encuentra mecanizada, 73.26% cuenta con tecnología aplicada a la sanidad vegetal, mientras que 76.62% del territorio sembrado con este cultivo, conto con asistencia técnica (FIRA, 2017).

Con el desarrollo de nuevos sistemas de visión inteligentes agrícolas se ha mejorado significativamente los sistemas de bio-producción debido principalmente a las mejoras en sensores, sistemas de posicionamiento global, y algoritmos de navegación (Zhang *et al.*, 2018). Recientemente la importancia de los sistemas de inspección automáticos no destructivos en la industria alimenticia ha estado creciendo debido a la inocuidad alimentaria y a los tratados internacionales (Ok *et al.*, 2018).

Los sistemas de procesamiento de imágenes hiperespectrales contienen información espectral y espacial de los objetos, para cumplir con la tarea de visualización y mejora de la eficiencia de la detección de agentes contaminantes, maduración, cuantificación de características físico-químicas, entre otros atributos (Li *et al.*, 2018).

El procesamiento digital de imágenes ha resuelto problemas de clasificación y reconocimiento automático de manzanas (*Malus demestica*) (Nguyen *et al.*, 2016), detección de textura en zanahorias (*Daucus carota*) (Sun *et al.*, 2018), y evaluación de madurez en tomate (El-Bendary *et al.*, 2015). Entre otras muchas aplicaciones, también ha podido fácilmente detectar formas en dos dimensiones para clasificación y selección (Hamuda *et al.*, 2018). Por otra parte, la detección y reconstrucción de objetos en tres dimensiones y su superficie es un reto hasta el día de hoy (Rahman *et al.*, 2018). Debido al funcionamiento de los equipos de cámaras hiperespectrales de barrido lineal de objetos se han encontrado pocos trabajos relacionados a la creación de superficie total de frutas, utilizando esta técnica.

Por lo anterior, se plantea el siguiente objetivo: a) reconstruir una imagen en dos dimensiones de la superficie total de un tomate (*Solanum lycopersicum*) con un sistema de procesamiento de imágenes hiperespectrales.

3.2. Revisión de literatura.

3.2.1. Morfología del tomate.

El fruto de tomate (*Solanum lycopersicum*) es diverso en medida y forma, con un rango que va desde pequeño y redondo hasta grande y con forma variable. Una característica morfológica prevalente que distingue muchas variedades cultivables de no domésticas, es que tienen una forma de fruta alargada (Brewer *et al.*, 2007). Los factores críticos que limitan el análisis fenotípico preciso y la puntuación de los atributos de la morfología de la fruta son la objetividad y la precisión. Brewer *et al.* (2006) desarrollaron términos y descriptores matemáticos para los atributos de la forma de la fruta que se implementaron en el programa de software llamado Tomato Analyzer.

3.2.2. Procesamiento de imágenes 2D.

Una imagen digital $a[m, n]$ describe en un espacio discreto en 2D una imagen análoga $a(x, y)$ que se encuentra en un espacio continuo, y al proceso su de conversión se le llama digitalización. La imagen continua en 2D $a(x, y)$ está dividida en N filas y M columnas, donde la intersección de una fila y columna es llamado como píxel. (Young *et al.*, 2011).

El procesamiento digital de imágenes es un método para realizar algunas operaciones en una imagen digital, con el fin de obtener una imagen mejorada o extraer información útil de ella. Es una tecnología en rápido crecimiento, y en algunas investigaciones forma el núcleo central del trabajo científico (González y Woods, 2002). El

procesamiento de imágenes básicamente implica la importación de la imagen vía la herramienta de adquisición, análisis y manipuleo de la imagen, una imagen o reporte de salida, que muestra un resultado con información relevante.

3.2.3. Sistemas de imágenes hiperespectrales

Los sistemas de imágenes hiperespectrales han sido propagados y adaptados rápidamente en la industria alimentaria debido al uso de técnicas quimiométricas en las cuales la selección de longitud de onda tiene un papel importante (Liu *et al.*, 2014).

3.2.4. Algoritmos de reconstrucción de objetos

Algunos criterios de calidad externa como: color, tamaño, textura y forma, ya se han automatizado en máquinas de clasificación industrial (Zhang *et al.*, 2015). Sin embargo, la clasificación de frutos teniendo en cuenta su superficie total y utilizando sistemas de procesamiento de imágenes hiperespectrales, es un tema aún poco estudiado.

La manera más simple e intuitiva de mapear la superficie de un objeto 3D es utilizando la proyección cilíndrica es decir la superficie de un objeto es mapeada en un cilindro. El problema de esta proyección es la pérdida de área equivalente. Stooke (1998) consideró este problema e implementó su propio algoritmo para objetos con formas irregulares.

Corkidi *et al.* (2006) desarrollaron un algoritmo con imágenes rojo-verde-azul, el cual reconstruía la superficie total de un mango (*Mangifera indica*). El fruto fue inoculado con 5 mL de *C. gloeosporioides*, con la finalidad de evaluar en el tiempo la propagación

de antracnosis sobre su superficie. Ellos evaluaron el error del sistema cartográfico, comparando un área simulada contaminada y el área producida por el algoritmo, obteniendo un error promedio de -0.1%, desviación estándar 0.44 ($r^2 = 0.99$).

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Material vegetal

Se utilizaron dos frutos tomates de la variedad Roma, los cuales deben cumplir con la calidad visual requerida por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (Manley, 1983). Los frutos de tomate fueron marcados para identificar su parte delantera y posterior, uno de ellos se dividió en cuatro cuadrantes, que fueron identificados con el algoritmo desarrollado en ésta investigación, se muestra en la Figura 4.1.



a) b)
Figura 3.1. a) parte frontal, b) parte posterior.

3.3.2. Mecanismo para girar tomate.

El mecanismo para hacer girar a los tomates se muestra en la Figura 4.2., y fue construido con materiales de fácil acceso, madera, tornillería, sujeciones de metal, dos ejes de madera, ventosa sencilla.

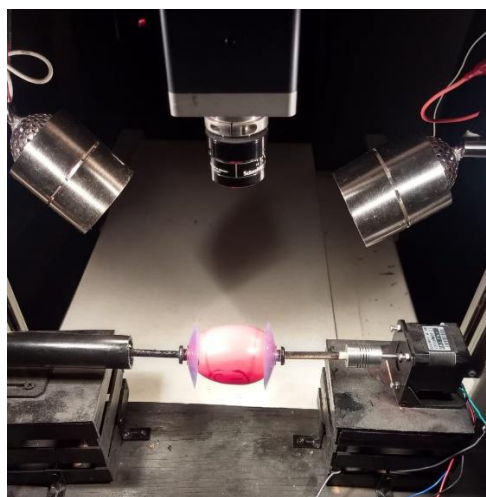


Figura 3.2. Sistema para rotar frutos de tomate.

El sistema propuesto para la toma de las imágenes se muestra en la Figura 4.3.

3.3.3. Material electrónico.

Se utilizó un motor a pasos NEMA 17, para el giro de motor con un paso de ángulo de 1.8° , un V nominal de 3.4 Volts, una corriente de operación de 1.7 A, y un torque de 4000 g · cm. Para el control de velocidad del motor se utilizó el controlador L298, el cual es un circuito integrado monolítico dentro de un empaque modelo PowerSO20, que funciona como un controlador de puente completo de lógica TTL (STMicroelectronics, 2018).

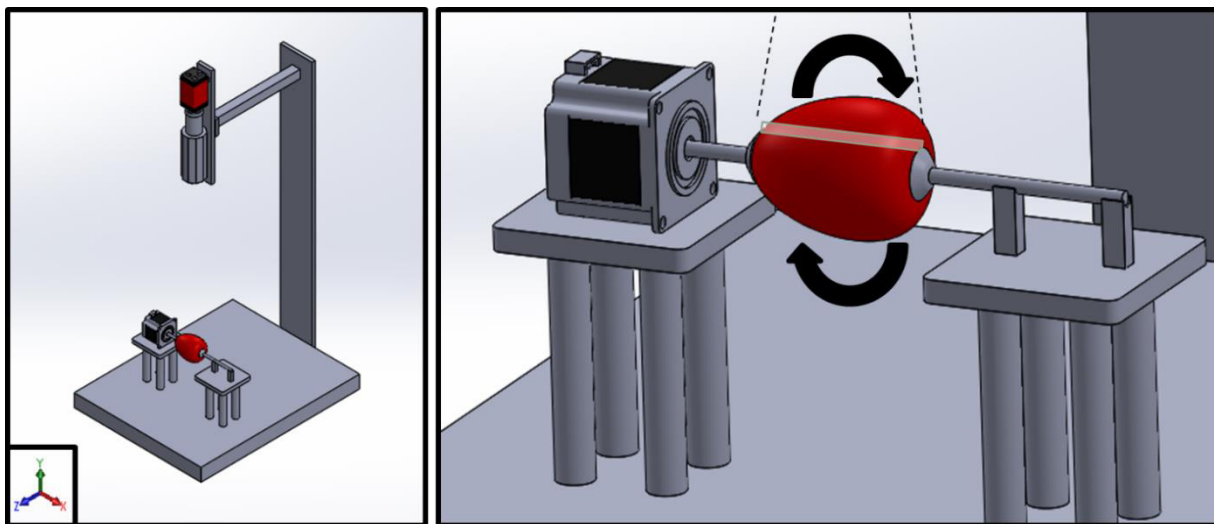


Figura 3.3. Propuesta de mecanismo giratorio de un tomate.

Además, un programa se desarrolló en la placa Arduino Uno REV3 (Arduino, 2018) fue utilizada para regular la velocidad del motor, y sentido de giro.

3.3.4. Adquisición del hipercubo.

Se colocó el tomate en el porta-frutos (ventosas), cuidadosamente en los ejes del motor y que el eje contrario aplique una fuerza suficiente para mantener en su sitio al fruto de tomate, además, debido a la forma irregular de los frutos de tomate fue necesario realizar una correcta alineación. Debido a que la cámara PIKE F210b es de barrido lineal, fue necesario sincronizar la velocidad de giro del tomate y la velocidad de fotogramas por segundo de la cámara. El código del programa computacional para la toma de las imágenes fue realizado en la plataforma MATLAB 2016, con su barra de herramientas para la adquisición de imágenes, el cual permite detectar y controlar

más fácilmente las características intrínsecas de la cámara, tales como: cuadros por segundo, región de interés, tiempo de exposición, color de adquisición, guardado y exportación de imágenes, pre-visualización, entre muchos otros parámetros. El programa computacional para la toma de las imágenes y el control de la velocidad de giro fue realizado en las plataformas MATLAB y Arduino (Apéndice 3).

3.3.5. Hipercubo de datos.

Se crearon cuatro hipercubos con una región de interés creada por una ventana de 623 x 900 píxeles. Cada hipercubo tuvo un promedio de 600 fotogramas, los cuales dispusieron de la información espacial necesaria para la reconstrucción de la superficie total del tomate.

3.4. Resultados y Discusión

MATLAB 2016 incluye los comandos necesarios para la manipulación de matrices (una imagen formada por píxeles x, y y una dimensión que representa las longitudes de onda λ , se considera una matriz 3D). La Figura 4.4. muestra la superficie total escaneada.

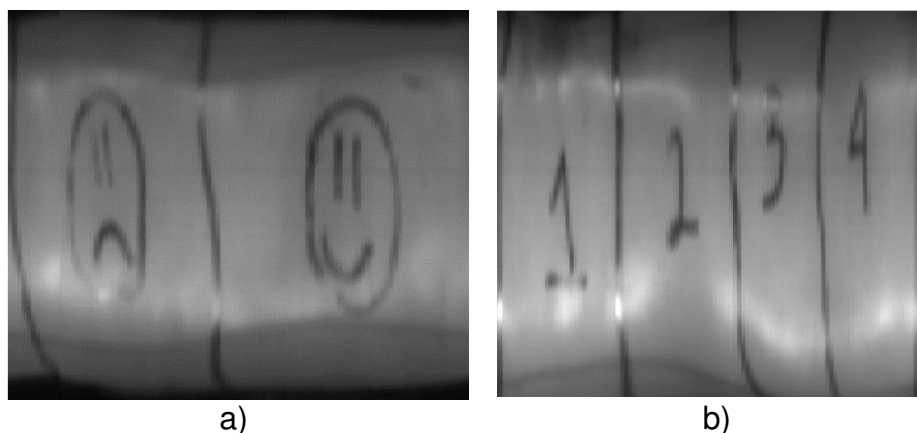


Figura 3.4. Superficie generada con el sistema hiperespectral.

3.5. Conclusiones y recomendaciones

El algoritmo del sistema de imágenes hiperespectrales, reconstruyó la superficie total de un fruto de tomate. El mecanismo de rotación y el algoritmo desarrollado pueden ser utilizados para futuras investigaciones dirigidas a la cuantificación del porcentaje total de daño por microorganismo en la superficie de frutos.

3.6. Referencias

- Brewer, M. T., Lang, L., Fujimura, K., Dujmovic, N., Gray, S., and van der Knaap, E. 2006. Development of a controlled vocabulary and software application to analyze fruit shape variation in tomato and other plant species. *Plant Physiology*, 141(1), 15–25.
- Brewer, M. T., Moyseenko, J. B., Monforte, A. J., and van der Knaap, E. 2007. Morphological variation in tomato: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1339–1349.
- Corkidi, G., Balderas-Ruíz, K. A., Taboada, B., Serrano-Carreón, L., and Galindo, E. 2006. Assessing mango anthracnose using a new three-dimensional image-analysis technique to quantify lesions on fruit. *Plant Pathology*, 55(2), 250–257.
- El-Bendary, N., El Hariri, E., Hassanien, A. E., and Badr, A. 2015. Using machine learning techniques for evaluating tomato ripeness. *Expert Systems with Applications*, 42(4), 1892–1905.
- FIRA. 2017. Panorama Agroalimentario, Tomate Rojo 2017. Panorama Agroalimentario, 24. (Disponible en: <https://www.google.com.mx/url?sa=t&drct=j&dq=and&src=s&source=web&cd=4&ved=0ahUKEwjczuD2-IrXAhUBVGMKHVskDuUQFgg5MAM&url=https%3A%2F%2Fwww.fira.gob.mx%2FInfEspDtoXML%2FfabrirArchivo.jsp%3FabreArc%3D65310&usg=AOvVaw27isiXsFsXd0APteCZ2Tjr>).

- Gonzalez, R. C., and Woods, R. E. 2002. Digital image processing. Prentice hall New Jersey, 779 pages.
- Hamuda, E., Mc Ginley, B., Glavin, M., and Jones, E. 2018. Improved image processing-based crop detection using Kalman filtering and the Hungarian algorithm. *Computers and Electronics in Agriculture*, 14:37–44.
- Li, X., Wei, Y., Xu, J., Feng, X., Wu, F., Zhou, R., Jin, J., Xu, K., Yu, X., He, Y. 2018. SSC and pH for sweet assessment and maturity classification of harvested cherry fruit based on NIR hyperspectral imaging technology. *Postharvest Biology and Technology*, 143, 112–118.
- Liu, D., Sun, D.-W., and Zeng, X.-A. 2014. Recent Advances in Wavelength Selection Techniques for Hyperspectral Image Processing in the Food Industry. *Food and Bioprocess Technology*, 7(2), 307–323.
- Manley, W. T. 1983. United States standards for grades of tomatoes for processing. USDA Agric. Marketing Serv., Washington, DC. (Disponibile en: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/TomatoPlantsStandard.pdf>).
- Nguyen, T. T., Vandevoorde, K., Wouters, N., Kayacan, E., De Baerdemaeker, J. G., and Saeys, W. 2016. Detection of red and bicoloured apples on tree with an RGB-D camera. *Biosystems Engineering*, 146, 33–44.
- Ok, G., Shin, H. J., Lim, M.-C., and Choi, S.-W. 2018. Large-scan-area sub-terahertz imaging system for nondestructive food quality inspection. *Food Control*.
- Rahman, M. M., Tan, Y., Xue, J., Shao, L., and Lu, K. 2018. 3D Object Detection: Learning 3D Bounding Boxes from Scaled Down 2D Bounding Boxes in RGB-D

Images. Information Sciences.

- SAGARPA. 2017. Secretaria De Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación, Planeación Agrícola Nacional Jitomate. Subsecretaría De Agricultura, 20 páginas.
- Stooke, P. J. 1998. Mapping worlds with irregular shapes. *Canadian Geographer*, 42(1), 61–78.
- Sun, Y., Kang, X., Chen, F., Liao, X., and Hu, X. 2018. Mechanisms of carrot texture alteration induced by pure effect of high pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32 pages.
- Young, I., Gerbrands, J., and Vliet, L. 2011. Fundamentals of Image Processing. *Optical and Digital Image Processing: Fundamentals and Applications*, 71–96.
- Zhang, B., Huang, W., Wang, C., Gong, L., Zhao, C., Liu, C., and Huang, D. 2015. Computer vision recognition of stem and calyx in apples using near-infrared linear-array structured light and 3D reconstruction. *Biosystems Engineering*, 139, 25–34.
- Zhang, Y., Gao, P., and Ahamed, T. 2018. Development of a rescue system for agricultural machinery operators using machine vision. *Biosystems Engineering*, 169, 149–164.

CAPÍTULO 4. DETECCIÓN DE *Fusarium graminearum* EN ESPIGAS DE TRIGO (*Triticum spp.*) CON TECNOLOGÍA DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES EN EL RANGO VISIBLE (400 – 700 nm) E INFRARROJO CERCANO (700 – 1000 nm)

4.1. Introducción

El trigo es uno de los principales cultivos en auge productivo a nivel mundial, siendo de importancia social y económica. Como tal, se realizan esfuerzos considerables para el control de enfermedades que afectan su producción.

Fusarium graminearum es un hongo que puede infectar numerosos tipos de cultivos en Canadá y México, por ejemplo, trigo, cebada, avena, centeno, maíz, alpiste y forraje. Sin embargo, hay que resaltar que los cultivos más afectados son el trigo, la cebada y el maíz. (Clear y Patrick, 2017). Este hongo es la principal especie responsable del encogimiento de granos, descoloramiento blanco tipo tiza o en ciertos casos una apariencia tipo rozada. (Delwiche, 2003). Algunas especies de *Fusarium* producen metabolitos tóxicos tales como nivalénol, zearalenona y deoxinivalenol (DON) también conocida como vomitoxina, los cuales son altamente tóxicos para humanos y animales.

Por lo anterior en este proyecto de investigación se propuso evaluar a través de dos algoritmos, análisis de componentes principales y mapeador de ángulo espectral la detección de *Fusarium* sobre espigas de trigo sin procesar; además, se comparó la precisión de los algoritmos con respecto al conteo visual de espigas contaminadas, realizadas por un técnico experto.

4.2. Revisión de literatura

Usualmente, la detección de *Fusarium* es realizada por humanos expertos, utilizando un proceso visual de clasificación y cuantificación, que puede ser largo y tedioso. Además, la efectividad de este tipo de detección puede decrecer con factores como la fatiga, las distracciones externas y las ilusiones ópticas. (Barbedo *et al.*, 2015). Por otro lado, la tecnología de imágenes hiperespectrales aplicada en seguridad alimentaria y en agricultura ha estado evolucionado rápidamente en los últimos quince años, con sistemas de procesamiento de imágenes hiperespectrales de barrido lineal, los cuales se basan en diferentes principios físicos tales como reflectancia, transmitancia, fluorescencia y espectroscopía Raman (Qin *et al.*, 2017).

De acuerdo a Bauriegel y Herppich (2014), el espectro visible, particularmente las bandas de color naranja y roja (600 – 750 nm), son muy útiles para la detección de *Fusarium* en trigo, pero sólo considerándose un grado entre la maduración temprana y maduración media. Ellos concluyeron que las imágenes hiperespectrales puede ser

utilizadas para la detección de *Fusarium* y factores tales como variedad de trigo y posición de los granos, que pueden afectar los resultados.

4.3. Materiales y métodos

El trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Visión del Departamento de Ingeniería en Biosistemas de la Universidad de Manitoba, localizado en la ciudad de Winnipeg, Canadá.

4.3.1. Cámara hiperespectral Specim FX10

Se utilizó la cámara Specim FX10 (Spectral Imaging, 2018). Esta cámara tiene un rango espectral de 400 – 1000 nm, distribuida en 224 bandas, tiene una velocidad de adquisición de 330 cuadros por segundo, el campo de visión es 38°, sus dimensiones son 150 x 85 x 71 mm, y un peso de 1.26 kg.

4.3.2. Sistema de iluminación

El sistema de iluminación es un arreglo de 4 focos halógeno-tungsteno de 30 watts, los cuales proporcionan una longitud de onda de entre 400 – 2500 nm. Estos fueron comprados directamente al proveedor de la compañía Specim.

4.3.3. Muestras de trigo

Se evaluaron 10 diferentes genotipos, proporcionados por Jang Lin, estudiante de doctorado en ciencias agrícolas de la Universidad de Manitoba. Todas las muestras

fueron rociadas con la misma concentración de *Fusarium*, para evaluar la resistencia de cada gen a este hongo, por cada genotipo se agruparon en “grupos” conformados entre 9 y 34 muestras, las cuales fueron etiquetas de la A a J.

4.3.4. Generación de los hipercubos

La cámara está montada en un sistema de movimiento lineal como se muestra en la Figura 3.1. Debido a que la cámara trabaja con el método escaneo o barrido lineal, es necesario sincronizar el movimiento lineal con la velocidad de adquisición de los fotogramas por segundo. Al final de todos los escaneos espectrales se generaron 37 cubos con datos sin procesar, con 224 bandas, y un peso de 9.82 GB. Sin embargo, en etapas posteriores se redujo la cantidad de datos de acuerdo a las regiones de mayor interés.

4.3.5. Pre-procesado de los hipercubos

Parte del desarrollo del algoritmo propuesto en esta investigación, se encuentra la etapa de pre-procesado, donde el primer paso es la normalización de todos los hipercubos, para ello se utiliza la Ecuación 8.

$$Normalización = \frac{Himg - Ref_N}{Ref_B - Ref_N} \quad Ec. (8)$$



Figura 4.1. Sistema de imágenes hiperespectrales, rango visible (400 – 1000 nm). Equipo perteneciente al Laboratorio de Imagenología de la Universidad de Manitoba.

Donde *Normalización* es el cubo con los espectros reales, *Himg* es el hipercubo sin ningún tipo de procesamiento previo, el cual fue generado directamente por el equipo y el software, *Ref_N* es generada con las luces apagadas y el obturador de la cámara con su respectiva tapa, para capturar el ruido de fondo negro, *Ref_B* es el hipercubo generado con una barra, tableta o mosaico de alta reflectividad, para alcanzar el máximo curva espectral de mayor intensidad.

Por otro lado, parte del pre-procesado implica, en ocasiones, muchos pasos, sin embargo, para esta investigación se utilizaron los siguientes pasos: a) obtención de

secciones del espectro, b) obtención de secciones espaciales c) agrupamiento de bandas espectrales, d) suavizado de firma espectral y e) transformación de variante normal estándar.

4.3.6. Obtención de secciones del espectro

Es necesario recortar las longitudes de onda que no sean necesarias, ya que pueden generar ruidos en el análisis, además que se tiene conocimiento que en ciertas bandas del espectro electromagnético es posible encontrar respuestas ya estudiadas para ciertos cultivos, por ejemplo, cantidad de agua, metabolitos secundarios, entre otros. Por esta razón, es muy común recortar las bandas que no sean necesarias, en esta investigación del espectro original de 400 – 1000 nm, se recortó el espectro de 500 – 850 nm, tal como se muestra en la Figura 3.2.b.

4.3.7. Software para análisis de imágenes hiperespectrales

Para el desarrollo del mapeador de ángulo espectral se utilizó MATLAB 2016b, (The MathWorks, Inc., 2017) y para el análisis de componentes principales se utilizó Hypertools, el cual está incorporado a un interfaz de usuario (Amigo y Mobaraki, 2017). El código del programa computacional para el mapeador de ángulo espectral se encuentra en el Apéndice 4.

4.3.8. Obtención de secciones espaciales

La remoción las zonas de los fotogramas que no aportan nada al análisis del objeto de estudio es muy útil, por ello se recomienda recortar las zonas del fondo del hipercubo,

y de esta manera implícitamente se reduce la cantidad de datos, y al mismo tiempo se reduce el tiempo de procesamiento.

4.3.9. Agrupamiento de bandas espectrales

Es utilizado para transformar una imagen con N bandas espectrales en una imagen con $N'=N/b$ bandas espectrales. Cada banda en la imagen transformada está formada por el promedio de b bandas consecutivas en la imagen original. Los conjuntos de bandas utilizadas para promediar no son consecutivos para que cada banda en la imagen original forme exactamente una banda en la imagen transformada (Shi y Healey, 2003).

4.3.10. Suavizado de la firma espectral y transformación de variante normal estándar

El suavizado de firmas espectrales es utilizado frecuentemente para reducir la dimensión del hipercubo, reducir ruidos en las firmas, además de maximizar los cambios en el espectro. Como paso preliminar para el análisis de los datos se utilizó el suavizado tal como se muestra en la Figura 3.2.b. El suavizado de los espectros fue realizado con un filtro Savitzky-Golay con una ventana de 11 pasos, con un grado de polinomio $P=2$ (Luo *et al.*, 2005). Además, se aplicó la variante normal estándar sobre el conjunto de espectros, el objetivo de variante normal estándar es eliminar la línea de base aditiva y los efectos de señal multiplicativos o ruido no deseado, transformando el espectro con media cero y varianza igual a uno (Kandpal *et al.*, 2013). En la Figura 3.2. se muestran 20 espectros sin suavizar (a) y después del procesado de suavizado con el filtro Savitzky-Golay (b).

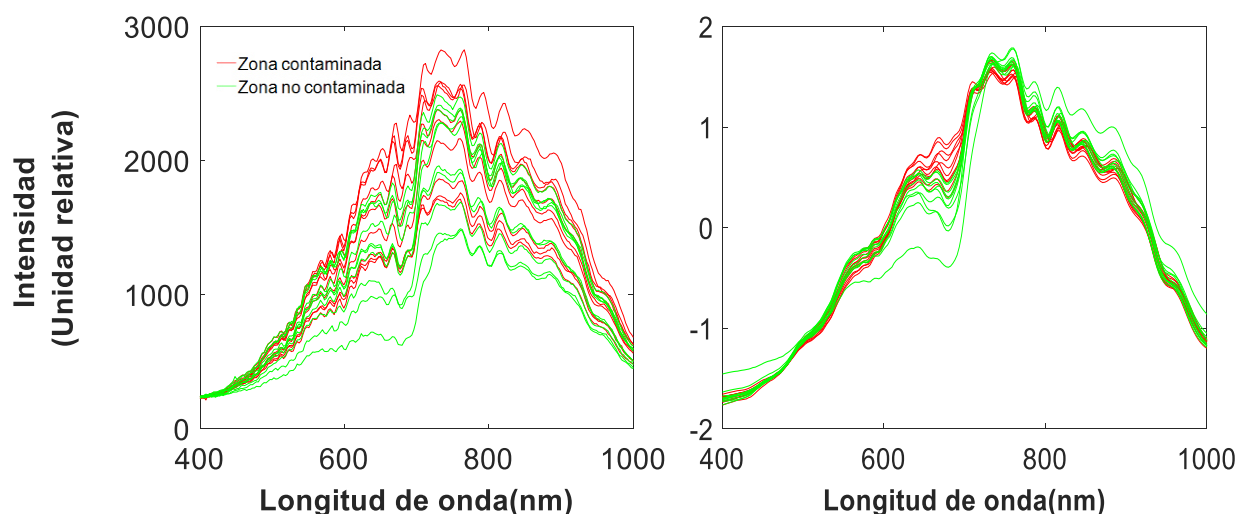


Figura 4.2. a) Firma de 20 píxeles dentro de las zonas de trigo, b) firmas espectrales suavizadas y con media 0.

4.3.11. Análisis de datos y algoritmos propuestos

4.3.11.1. Análisis de componentes principales

Esta metodología es a menudo utilizada en imágenes hiperespectrales como un medio para extraer información relevante de todas las bandas en un hipercubo. Análisis de componentes principales es una de las técnicas más importantes dentro de los análisis de datos multivariados. Es a menudo aplicado para visualizar la estructura de los datos, para detectar valores atípicos, y para reducir las dimensiones (Wu *et al.*, 1997). El análisis de componentes principales es una de las metodologías más utilizadas en imágenes hiperespectrales, debido a su capacidad de detectar patrones, anomalías y agrupar datos que comparten ciertas características (Bajorski, 2011). Un hipercubo se

compone de un conjunto de espectros $x_i, i=1, \dots, n$ donde x_i 's son los vectores p-dimensional (reflectancia o radiación). ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES es usualmente aplicado sobre la matriz de covarianza de la muestra, como se muestra en la Ecuación 9.

$$S = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(x_i - \bar{x})^T \quad \text{Ec. (9)}$$

Donde $\bar{x} = (\sum_{i=1}^n x_i) / n$. Generalmente se asume que los vectores x_i son realizaciones independientes de la misma distribución con la matriz de covarianza común Σ . El principal enfoque de esta metodología es evaluar el conjunto de datos hiperespectrales para diferenciar aquellos con características particulares, esto se realiza mediante la proyección ortogonal de los datos en nuevos ejes, en análisis de componentes principales la proyección óptima W_{opt} es elegida para maximizar el determinante de la matriz de dispersión de las muestras proyectadas, como aparece en la Ecuación 10.

$$W_{opt} = \arg \max |W^T S W| = [w_1 w_2 \dots w_m] \quad \text{Ec. (10)}$$

Donde $W^T S W$ es el producto de la matriz transpuesta de datos de dispersión W^T , matriz de covarianza S , y matriz de datos de dispersión W . $\{w_i | i=1, 2, \dots, m\}$ es el conjunto de eigenvectores N – dimensional (Jiang *et al.*, 2010). El resultado del análisis componentes principales es la proyección de los datos en n ejes, donde el 90% de los datos se encuentra en los primeros 3 ejes. La ventaja del análisis de

componentes principales comparado con otros métodos es que es un método de aprendizaje no supervisado (Sun, 2010).

4.3.11.2. Mapeador de Ángulo Espectral

El mapeador de ángulo espectral es un algoritmo de clasificación supervisado, el cual utiliza la información angular espectral para la clasificación de datos hiperspectrales (Kruse *et al.*, 1993). Este algoritmo, trata a cada píxel en una imagen hiperspectral como un vector n - dimensional, donde n es igual al número de bandas espectrales. El algoritmo mide la similitud de un espectro objetivo *versus* un espectro de referencia, calculando el ángulo entre ellos. Un ángulo más pequeño representa una coincidencia más cercana al espectro de referencia (Zhang y Li, 2014). El ángulo entre el espectro objetivo y el espectro de referencia se puede calcular con la Ecuación 11.

$$\alpha = \cos^{-1} \left(\frac{\sum_{i=1}^n a_i \cdot b_i}{[\sum_{i=1}^n a_i^2]^{1/2} \cdot [\sum_{i=1}^n b_i^2]^{1/2}} \right) \quad \text{Ec. (11)}$$

Donde n es el número de bandas espectrales, a_i representa los valores del espectro objetivo en la i -ésima banda y b_i representa los valores del espectro de referencia en la i -ésima banda.

4.3.11.3. Detección de presencia de *Fusarium graminearum* por inspección visual

Debido a que se ejecutaron dos filtros de clasificación: supervisado y no supervisado, fue necesario crear una librería la cual contenga el espectro referencia con el cual será posible comparar y detectar las zonas dañadas. Para encontrar esta referencia, el

primer paso fue determinar que espigas de trigo y en qué zonas se encontraba el daño por *Fusarium graminearum*, esta inspección fue realizada por un experto, quien identificó el daño provocado por este hongo en zonas no maduras, maduras o con otro tipo de aspecto visual (Goyal y Manoharachary, 2014), en la Figura 3.3. se observan las muestras 1 al 6 del lote A con las zonas dañadas.



Figura 4.3. Zonas del Lote A, marcadas en rojo, donde se encuentra daño por *Fusarium graminearum*.

En el Cuadro 4.1. se muestra la cuantificación realizada por inspección visual sobre las muestras, se utilizó la Ecuación 12, para calcular el porcentaje de daño.

$$DañoVisual = \frac{Granos_Contaminados}{Total_de_granos} \times 100\% \quad Ec. (12)$$

Cuadro 4.1. Cuantificación de daño por inspección visual.

Autor	% Daño visual
A1	8.33
A2	16.66
A3	25
A4	33.33
A5	100
A6	10

4.4. Resultados y discusión

Los resultados de análisis de componentes principales, demostró tener un mejor agrupamiento y clasificaciones de los granos de trigo contaminados en la componente principal 2, la Figura 3.4. muestra las imágenes correspondientes a las 3 componentes principales. La componente principal 2, agrupa en ciertas zonas, valores atípicos, y automáticamente los pigmenta de color rojo, correspondiendo a zonas dañadas por *Fusarium graminearum*.

Estos resultados pueden ser comprobados relacionando zonas previamente identificadas visualmente en la Figura 3.3. Por otra parte, Bauriegel *et al.* (2011) también encontraron buenos resultados utilizando el análisis de componentes principales en diferentes etapas de maduración del trigo, donde su algoritmo fue capaz de detectar *Fusarium graminearum* en un estado maduro, además, concluyeron que en los primeros estados de desarrollo no fue posible detectar este hongo, la causa se debió a que la planta no presenta síntomas en etapas tempranas. Por otra parte, la componente principal 2 fue la que mejor discriminó tejidos dañados y saludables.

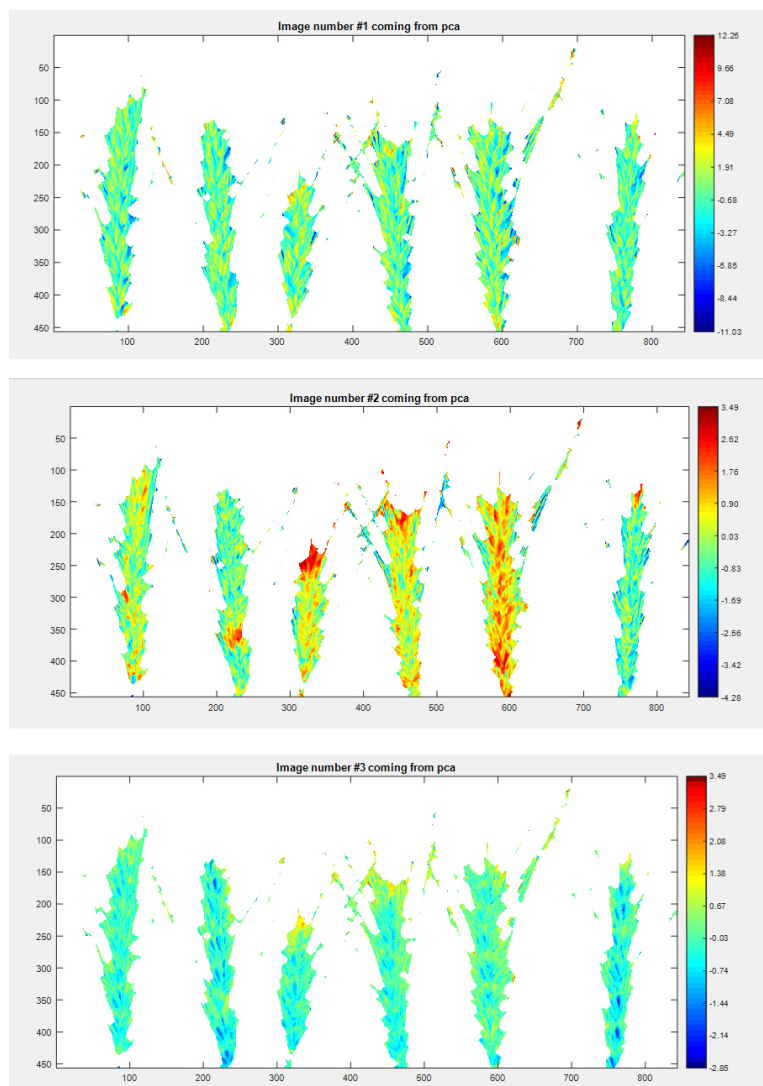


Figura 4.4. Análisis de componentes principales, donde la componente principal 2 aparece en color rojo, indicando las zonas dañadas por *Fusarium graminearum*.

4.4.1. Mapeador de ángulo espectral para la detección de *Fusarium graminearum*

La segunda metodología evaluada fue el algoritmo mapeador de ángulo espectral, el cual fue comparado con los espectros de referencia. La Figura 3.5. muestra la imagen

de clasificación de las zonas dañadas por *Fusarium*, la cual fue procesada con el mapeador de ángulo espectral.

De acuerdo a Liu y Yang (2013) después de realizar diferentes pruebas, observaron que al modificar el ángulo (en radianes) de 0.1 a 0.05, se generan clasificaciones más cercanas al espectro de referencia.

4.4.2. Cuantificación de zonas afectadas por *Fusarium graminearum*

La cuantificación de las zonas afectadas se realizó, contando píxel por píxel tanto para análisis de componentes principales y mapeador de ángulo espectral, los resultados se muestran en el Cuadro 4.2.

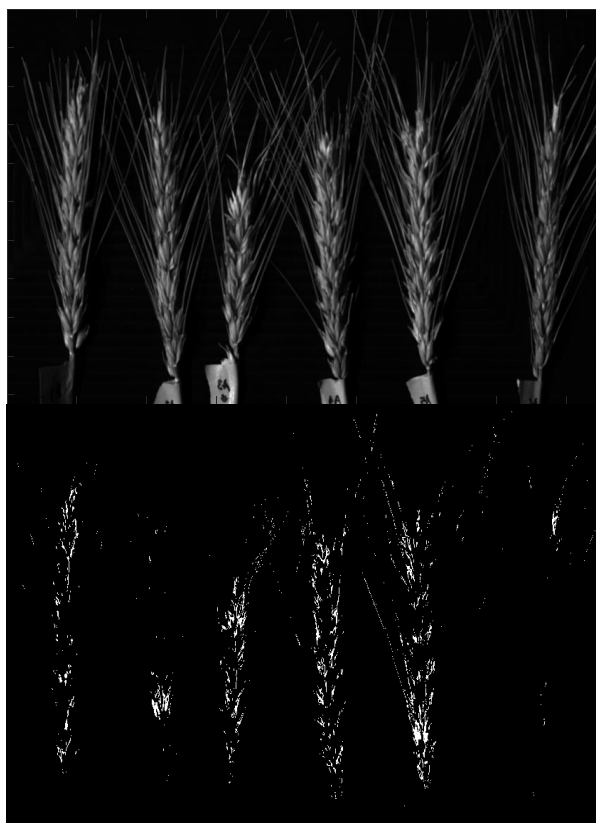


Figura 4.5. Umbralización y binarización de los píxeles con $\alpha < 0.05$.

Cuadro 4.2. Comparación del daño a espiga de trigo evaluado con análisis de componentes principales y mapeador de ángulo espectral.

Espiga de referencia	Análisis de componentes principales (% de daño)	Mapeador de ángulo espectral (% de daño)
A1	8.33	23
A2	16.33	17
A3	38.1	36.3
A4	83.6	81.4
A5	90.4	89.6
A6	8.3	6.15

El proceso de cuantificación en análisis de componentes principales se basó en contar los píxeles en la imagen correspondiente a la componente principal 2, con umbral superior a 0.95, por otro lado, como mapeador de ángulo espectral entrega píxeles con valor 0 (negro) y 1 (blanco), solo fue necesario cuantificar píxeles blancos. El Cuadro 4.3. muestra el error absoluto de las metodologías propuestas en este trabajo, además se muestra otros trabajos encontrados en la literatura.

Cuadro 4.3. Resultados obtenidos por otros investigadores del porcentaje de error de detección de *Fusarium* en espigas y semillas de trigo.

Autor	Error
Análisis de componentes principales (propuesto)	8.6 %
mapeador de ángulo espectral (propuesto)	10 %
Delwiche <i>et al.</i> , (2011)	2 – 17 %
Menesatti <i>et al.</i> , (2009)	9 – 18 %
Shahin y Symons, (2011)	8 %
Delwiche <i>et al.</i> , (2013)	4 – 10 %

Los valores mostrados en el Cuadro 4.3., son valores de referencia ya que cada investigador utilizó diferentes metodologías y maneras de cuantificación.

4.5. Conclusiones y recomendaciones

El empleo de la cámara VIS Specim FX10 permitió detectar el hongo *Fusarium* en espigas de trigo, análisis de componentes principales es una buena metodología para clasificar áreas infectadas.

El sistema de imágenes hiperespectrales tuvo una buena detección de *Fusarium* sobre espigas de trigo (mayor al 92%), siendo análisis de componentes principales el que

obtuvo el mejor desempeño, ya que su error fue de 8.6 % en comparación al 10% de error de mapeador de ángulo espectral. El espectro visible (400 – 700 nm) y parte del infrarrojo cercano (700-1000 nm) es un rango adecuado para la detección de *Fusarium graminearum* sobre espigas de trigo. Mayor análisis es necesario para determinar la factibilidad del sistema en campo abierto, y no bajo condiciones de laboratorio.

4.6. Referencias

- Amigo, J., and Mobaraki, N. 2017. HYPER-Tools. A graphical user-friendly interface for multivariate and hyperspectral image analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 172:174-187
- Bajorski, P. 2011. Statistical inference in PCA for hyperspectral images. *IEEE Journal on Selected Topics in Signal Processing*, 5(3), 438–445.
- Barbedo, J. G. A., Tibola, C. S., and Fernandes, J. M. C. 2015. Detecting *Fusarium* head blight in wheat kernels using hyperspectral imaging. *Biosystems Engineering*, 131(Supplement C), 65–76.
- Bauriegel, E., Giebel, A., Geyer, M., Schmidt, U., and Herppich, W. B. 2011. Early detection of *Fusarium* infection in wheat using hyper-spectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 75(2), 304–312.
- Bauriegel, E., and Herppich, W. 2014. Hyperspectral and Chlorophyll Fluorescence Imaging for Early Detection of Plant Diseases, with Special Reference to *Fusarium* spec. Infections on Wheat. *Agriculture*, 4(1), 32–57.
- Clear, R., and Patrick, S. 2017. *Fusarium* head blight in western Canada. (Disponibile en: <https://www.grainscanada.gc.ca/str-rst/Fusarium/fhbwc-foc-eng.htm>)
- Delwiche, S. R. 2003. Classification of scab- and other mold-damaged wheat kernels by near-infrared reflectance spectroscopy. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 46(3), 731–738.
- Goyal, A., and Manoharachary, C. 2014. Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens.

- Jiang, L., Zhu, B., and Tao, Y. 2010. Hyperspectral Image Classification Methods. In *Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control* (pp. 79–98). Elsevier, p.79-98.
- Kandpal, L. M., Lee, H., Kim, M. S., Mo, C., and Cho, B. K. 2013. Hyperspectral reflectance imaging technique for visualization of moisture distribution in cooked chicken breast. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 13(10), 13289–13300.
- Kruse, F. A., Lefkoff, A. B., Boardman, J. W., Heidebrecht, K. B., Shapiro, A. T., Barloon, P. J., and Goetz, A. F. H. 1993. The spectral image processing system (SIPS)-interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data. *Remote Sensing of Environment*, 44(2–3), 145–163.
- Liu, X., and Yang, C. 2013. A Kernel Spectral Angle Mapper algorithm for remote sensing image classification. *Proceedings of the 2013 6th International Congress on Image and Signal Processing, CISP 2013*, 2(2011), 814–818.
- Luo, J., Ying, K., and Bai, J. 2005. Savitzky-Golay smoothing and differentiation filter for even number data. *Signal Processing*, 85(7), 1429–1434.
- MATLAB. 2016. version 9.10.0 (R2016a). Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc.
- Qin, J., Kim, M., Chao, K., Chan, D., Delwiche, S., and Cho, B.. 2017. Line-Scan Hyperspectral Imaging Techniques for Food Safety and Quality Applications. *Applied Sciences*, 7(2), 125.
- Shi, M., and Healey, G. 2003. Hyperspectral texture recognition using a multiscale opponent representaion. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 41(5)(5), 1090–1095.
- Wu, W., Massart, D. L., and De Jong, S. 1997. The kernel PCA algorithms for wide data. Part I: Theory and algorithms. *Chemometrics and Intelligent Laboratory*

Systems, 36(2), 165–172.

Zhang, X., and Li, P. 2014. Lithological mapping from hyperspectral data by improved use of spectral angle mapper. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 31(1), 95–109.

CAPÍTULO 5. CONTEO DIGITAL Y DISPERSIÓN ESPACIAL DEL PULGÓN (*Melanaphis sacchari*) DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN HOJAS DE SORGO

5.1. Introducción

El pulgón de la caña de azúcar, también conocido como pulgón amarillo, *Melanaphis sacchari*, aunque es originario de África, actualmente se encuentra en varias regiones del mundo. Esta especie puede atacar varios cultivos de la familia gramíneas, sin embargo, tiene una marcada preferencia por el sorgo. También habita en varios pastos silvestres y malas hierbas como el pasto Johnson (*Sorgo halapense*). El pulgón amarillo succiona la savia en las hojas, las cuales se vuelven rojas por las heridas. Los daños indirectos incluyen la transmisión de virus y hongos (Hinson, 2017; Villanueva y Sekula, 2014). Los pulgones no tienen alas la mayor parte del año, pero a veces en condiciones de escasez de alimentos o clima adverso desarrollan alas para emigrar. Son altamente reproductivos, y su ciclo de vida es de dos a tres semanas (Singh *et al.*, 2004). El enfoque principal para el control del pulgón es un manejo integrado de plagas y enfermedades, que incluye control biológico (parasitoides, depredadores y entomopatógenos), control cultural y tolerancia varietal. El pulgón de la caña de azúcar se confirmó en sorgo en 4 estados y 38 condados en los Estados Unidos de América.

En 2015, se informó sobre el pulgón en sorgo en 17 estados y en más de 400 condados (Bowling, 2016). Esta especie de plaga invasora en México, se detectó por primera vez en las plantaciones de sorgo del estado de Tamaulipas, en el mes de noviembre de 2013. Las pérdidas en el rendimiento de sorgo causadas por el pulgón amarillo oscilan entre 30 y 100%, dependiendo de los niveles de infestación. Además, la presencia de la plaga en México, puede estar asociada con diversas enfermedades del sorgo (INIFAP, 2015). El pulgón amarillo es actualmente una de las plagas más dañinas en la agricultura y, como tal, se deben diseñar formas eficientes de control para reducir las pérdidas causadas por este insecto. La efectividad de este control depende, entre otros factores, de la detección temprana de la infestación. El uso de insecticidas químicos debería ser el último recurso para evitar el resurgimiento de la plaga, la eliminación de la fauna beneficiosa y el desarrollo de resistencia a plagas a los insecticidas (SAGARPA, 2014). Mientras que el reconocimiento de los principales enemigos naturales del pulgón de la caña de azúcar, no solo en la edad adulta sino también en sus etapas inmaduras, son la base para el combate de este áfido (Marín Jarillo y Herrera-Corredor, 2016). La detección e identificación oportuna de plagas en cultivos agrícolas es esencial para asegurar una buena producción (Parida *et al.*, 2015). A pesar de que la detección temprana puede ser realizada visualmente por humanos, puede ser casi imposible medir y cuantificar continuamente grandes áreas de sorgo sin tener un sistema automatizado. Existen muchos métodos para detectar e identificar diferentes tipos de plagas, como moscas blancas, el pulgón amarillo, trips y gorgojos. Mundada y Gohokar (2013) detectaron moscas blancas y pulgones amarillos mediante el uso de trampas amarillas adhesivas y una cámara con funciones de

inclinación y zoom. Las características como la excentricidad, el color, la media, la desviación estándar, etc., se extrajeron y almacenaron en una máquina de vectores de soporte. Cho *et al.* (2007), identificaron moscas blancas, áfidos, trips utilizando tres tipos de características que incluían tamaño, forma, color y borde. Cortez Mondaca (2015), sugirió un umbral de daño de 50 pulgones por planta en promedio, sin embargo, la población excede este estándar cuando la población aumenta exponencialmente. Elliott *et al.* (2017) estudiaron la distribución del pulgón amarillo dentro y entre plantas de sorgo en campos comerciales de sorgo de grano. Encontraron con frecuencia diferencias significativas en el número de pulgones entre las hojas superiores e inferiores en los campos en cada estado, sin embargo, no hubo patrones consistentes en cuanto a si la hoja superior o inferior tenía más pulgones amarillos. Allen *et al.* (2016), recomiendan monitorear los campos dos veces por semana y considerar un tratamiento insecticida si las infestaciones aumentan a un promedio de 50-125 pulgones por hoja. De acuerdo con lo anterior, es de suma importancia realizar medidas preventivas. En este contexto, las herramientas básicas de procesamiento de imágenes pueden ser muy valiosas, ya que son capaces de detectar la infestación de pulgones usando solo las imágenes proporcionadas por cámaras estratégicamente colocadas en el cultivo de sorgo. En estudios sobre la efectividad de diferentes estrategias de control, se deben recolectar varias muestras de plantas que reciben diferentes tipos de tratamiento. Cada una de estas muestras contiene pulgones que se clasifican según su etapa de ciclo de vida y luego se cuantifican. Esta clasificación a menudo se basa en el tamaño de los especímenes. Sin embargo, una herramienta basada en el procesamiento de imágenes capaz de detectar y contar pulgones amarillos podría ser muy útil, especialmente en términos de

velocidad. El objetivo principal de este estudio es desarrollar un sistema visual para contar y medir la dispersión espacial del pulgón amarillo en las hojas de sorgo.

5.2. Revisión de literatura

El pulgón amarillo del sorgo es considerado una de las plagas más dañinas para el cultivo de sorgo, llegó a México en 2013 y ha ocasionado graves daños a la producción de este cultivo en varios estados. En Guanajuato, en el 2015 ésta plaga afectó la producción de sorgo tanto en riego como en temporal, reduciendo la producción hasta en un 100% en los sitios donde no se atendió el problema (CESAVEG, 2017).

Maharlooei *et al.* (2015) realizaron un programa computacional en MATLAB para el conteo digital de áfidos sobre hojas de soya (*Glycine max*), utilizaron un conteo de 250 insectos como el límite menor para estimar el potencial de daño de este insecto, además, utilizaron imágenes con tres diferentes resoluciones 8,12 y 18 Mega-píxeles, así como diferentes condiciones de iluminación. El número de áfidos identificados por el sistema de sensado fue comparado con el conteo realizado por un experto entrenado, para evaluar la precisión del algoritmo.

La gama de color del cuerpo del pulgón amarillo varia de color amarillo pálido, gris o marrón dependiendo de la época del año o la etapa de desarrollo. Las características morfológicas distintivas incluyen el tarso oscuro, los pies, las cornículas (tubos de escape) y las antenas. El pulgón amarillo se alimenta en la parte inferior de las hojas de sorgo y puede cubrir gran parte del área de la superficie inferior. Las poblaciones de pulgón amarillo excretan grandes cantidades de miel durante la alimentación, que

se acumulan en la superficie de las hojas de abajo, lo que las hace pegajosas y brillantes (Newton, 2017).

Por lo anterior en este trabajo de investigación se desarrolló un sistema de procesamiento de imágenes para contar pulgones amarillos en hojas de sorgo y estimar su índice del vecino cercano.

5.3. Materiales y métodos

5.3.1. Inspección visual por humanos

El método que actualmente se lleva a cabo por el personal a cargo del monitoreo de plagas, consiste en tomar muestras aleatorias de hojas de sorgo y buscar en la superficie inferior de ellas, si existe la presencia de pulgón amarillo. Después de encontrar los pulgones, se realizó un conteo manual donde se separaron ninfas y adultos, este proceso se puede realizar antes y después de una lluvia (Brewer, 2014; NSPM, 2014).

5.3.2. Adquisición de imágenes

Las imágenes fueron capturadas con un teléfono móvil HTC (3.2 megapíxeles) a 5 cm de distancia a la hoja de sorgo (Figura 5.1.) en una plantación de sorgo en la Estación Experimental de la Facultad de Agricultura ubicada en coordenadas 25 ° 52'18.4 "N 100 ° 03'17.5 "O.

5.3.3. Análisis de las imágenes

Se utilizó el software imageJ, una plataforma múltiple para analizar imágenes, (Abramoff *et al.*, 2004; Broeke *et al.*, 2015). Antes de comenzar el análisis de la imagen, se seleccionó un área de interés creando un polígono y se borró todo alrededor de los bordes (Figura 5.2.a). Para obtener precisión en el conteo digital, se estableció una escala en la imagen con una longitud conocida, que era de 2 mm o de longitud de insecto adulta (11,1782 píxeles). A continuación, se llevó a cabo un proceso de conversión de la imagen del espacio de color rojo-verde-azul a una imagen de 8 bits (Miura, 2016), y luego se realizó un proceso de umbralización para ajustar a 84,29% (valores 120 y 255), por defecto en azul en verde (sobre / debajo) y negro. Después del ajuste anterior, el pulgón o áfido adulto se separa por completo como región de interés, ya que los valores de la imagen del pulgón adulto permanecen por debajo del umbral se convierten en color negro y todos los píxeles con valores superiores al umbral se convierten en color blanco (Figura 5.2.b) usando la conversión binaria de imágenes. En el Apéndice 5 se muestra el procedimiento paso a paso para generar el macro o programa computacional en ImageJ.



Figura 5.1. Toma de las imágenes.

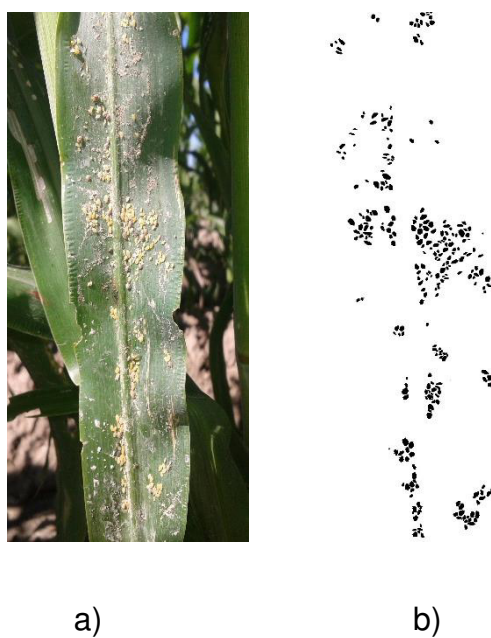


Figura 5.2. Imagen original de hojas con pulgón amarillo (a), umbral de la imagen (b).

Se realizó un proceso de filtrado de paso de banda en la imagen binaria utilizando la transformada rápida de Fourier (Sozer, 2016; Tang, 2016). El filtro de paso de banda

transformada rápida de Fourier difumina la imagen y también puede suprimir rayas horizontales o verticales que se crean por el escaneo una imagen línea por línea (Ferreira y Ras 2012). En nuestro caso, el filtro de paso de banda transformada rápida de Fourier mejoró los detalles de la imagen y eliminó las imperfecciones, luego se invirtió la imagen obtenida. (Figura 5.3.a). Después de filtrar, se realizó un análisis de partículas, ajustando los siguientes parámetros: tamaño de píxel a 0.3 – 0.4, circularidad a 0.7, además se calculó el proceso segmentación para separar los pulgones (Figura 5.4.). La compacidad se entiende como la relación entre el área de una región y su perímetro (Burger y Burge, 2016). Los resultados se guardaron en un archivo de computadora, que fue útil para interpretar mejor los resultados del conteo, así como también existe la opción de exportar los datos a un archivo de Microsoft Excel versión 2016 (Excel, 2016). Se creó un macro que contenía un conjunto de estructuras de control, operadores y funciones integradas, y luego, se llevó a cabo un procesamiento por lotes realizado con el macro en cada imagen de entrada (Hebert, 2016).

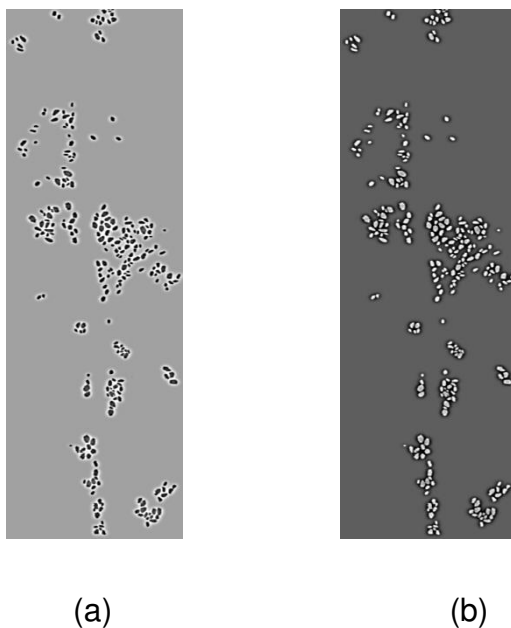


Figura 5.3. Proceso de filtrado con la transformada rápida de Fourier (a), Inversión de la imagen (b).

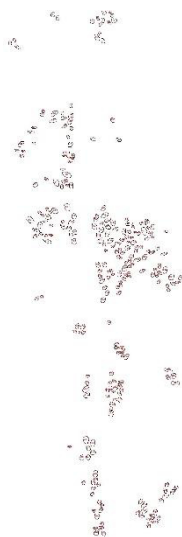


Figura 5.4. Imagen obtenida después del análisis del pulgón amarillo.

5.3.4. Índice de dispersión

Se utilizó el método de cuadrantes, que implica contar la frecuencia de ocurrencias de los 267 pulgones en cada sub-cuadrante de 4 cm² (Figura 5.5.). Si los individuos dentro de la población tienen dispersión aleatoria, habrá un número aleatorio de individuos en cada cuadrante, centrados alrededor de la media con la varianza σ igual a la media μ (Troxler, 2016). Si los individuos de la población están uniformemente distribuidos, habrá el mismo número de individuos en cada sub cuadrante, con $\sigma^2 < \mu$. Si los individuos de la población están agrupados, habrá algunos cuadrantes con muchas personas y muchos cuadrantes sin individuos (Flint, 1985).

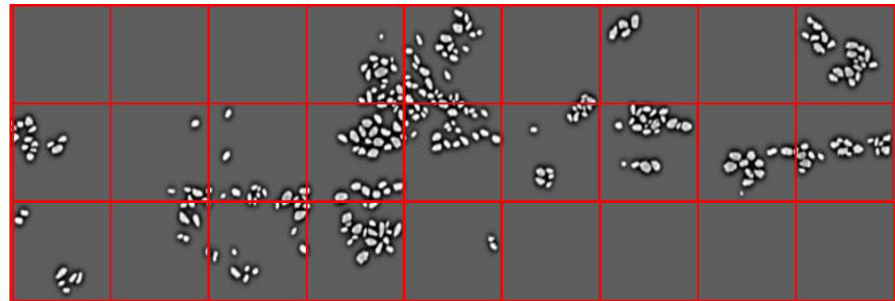


Figura 5.5. Patrón de dispersión en 27 cuadrantes del pulgón amarillo.

De acuerdo a Wilkinson (2011), un índice de dispersión (ID) de áfidos, puede calcularse usando la Ecuación 13:

$$ID = \frac{\sigma^2}{\mu} \quad \text{Ec. (13)}$$

Donde σ^2 y μ son la varianza y la media, respectivamente. Una prueba de significancia basada en la frecuencia chi-cuadrada fue realizada (χ^2) (Marques de Sá,

2007). La prueba estadística se realizó calculando la suma de la diferencia de cuadrados dividido por la media, como aparece en la Ecuación 14.

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{\bar{x}} \quad \text{Ec. (14)}$$

Para el cálculo de los grados de libertad se utilizó (número de cuadrantes -1, con un valor de $P > 0.01$).

5.3.5. Índice del vecino más cercano

El índice del vecino más cercano es una medida de distribución espacial de puntos, y se deriva de la distancia promedio entre cada punto y su vecino más cercano (Nagle y Spencer, 2000). La distancia euclidiana, para cualquier punto, p_1 (coordenadas x_1, y_1) y p_2 (coordenadas x_2, y_2), se da por $d(p_1, p_2) = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$. Cada patrón de puntos de tamaño n está compuesto por $P_n(p_i : 1...n)$, luego para cualquier punto, en $p_i \in P_n$, la distancia del vecino más cercano de p_i a todos los demás puntos en P_n , (Smith, 2016) se presenta en la Ecuación 15:

$$NND_i = NND_i(P_n) = \min\{d(p_i, p_j) : p_i \in P_n, j \neq i\} \quad \text{Ec. (15)}$$

Según IB Geography (2016), el índice del vecino más cercano mide la distribución espacial de 0 (patrón agrupado) a 1 (patrón disperso aleatoriamente) a 2.15 (patrón regularmente disperso / uniforme). El índice del vecino más cercano se calcula usando la Ecuación 16 (Danese *et al.*, 2008):

$$NNI = 2\bar{D}\sqrt{\frac{n}{A}} \quad \text{Ec. (16)}$$

Donde:

$$\bar{D} = \frac{\sum_i^N NND_i}{N} = \text{Distancia media observada más cercana (mm)}$$

n = cantidad de puntos (pulgonos)

A = área total (mm²)

Como lo menciona Albukhnefis (2016), los complementos podrían ser útiles, y son considerablemente más influyentes, flexibles y rápidos que las macros. Usamos un complemento desarrollado por Mao (2016) para calcular las distancias del Vecino más cercano con Imagen J.

Por otro lado, se realizó una prueba de significación basada en la frecuencia estándar, de acuerdo a la Ecuación 17 (Rao, 2007; Vidakovic, 2017).

$$Z = \frac{\bar{D} - E(\bar{D})}{SD} \quad \text{Ec. (17)}$$

Donde:

SD =Desviación estándar en mm.

El cálculo de la SD se muestra en la Ecuación 18:

$$SD = \frac{0.26136}{\sqrt{\frac{n^2}{A}}} \quad \text{Ec. (18)}$$

En la Ecuación 19 se muestra el cálculo de $E(\bar{D})$, que es la distancia promedio del vecino más cercano no corregida, en mm (Taylor y Karlin, 2014).

$$E(\bar{D}) = 0.5 \sqrt{\frac{n}{A}} \quad \text{Ec. (19)}$$

5.4. Resultados y discusión

La Figura 5.6. muestra el brillo de los píxeles a lo largo de una línea recta amarilla en el ancho de la hoja de sorgo. La distancia (píxeles) a lo largo de una línea recta varió de 0 a 140, mientras que el eje y (luminancia de píxeles o valor gris) varió de 0 a 240. Los pulgones están dentro del rango de 235 a 240 píxeles de luminancia.

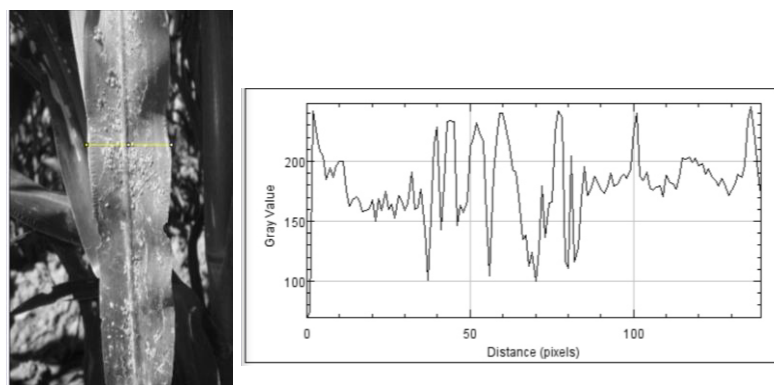


Figura 5.6. Perfil trazado en el ancho de la hoja de sorgo (línea horizontal amarilla).

El conteo hecho por visión humana de pulgones en una muestra realizada por el equipo de investigadores fue de 267 pulgones, que coincidieron con los resultados obtenidos por el software ImageJ (Cuadro 5.1.). El programa de cómputo consideró solo ciertas áreas de hoja de sorgo con plaga para concentrarse en áreas pobladas por pulgones, para reducir el tiempo que consume el conteo visual por los humanos y obtener datos tan precisos como sea posible. Se creó una macro y el proceso por lotes ejecutó rápidamente una secuencia de comandos en Imagen J. El índice de dispersión fue 6.01, por lo tanto, se detectó grupos de pulgones en la imagen. Las Figuras 5.7. y 5.8. muestran el histograma de dispersión de áfidos y los centroides, respectivamente. El estadístico de prueba para el patrón agrupado resultó 241.75. En la prueba de significancia, la frecuencia χ^2 chi-cuadrada a 0.01 de probabilidad con $df = 26$ fue de 45.642, por lo tanto, concluimos que hay menos del 1% de probabilidad de que el patrón agrupado pueda haber resultado de un proceso aleatorio. Además, se ajustó los datos de dispersión de pulgones a la línea recta usando mínimos cuadrados y obtuvimos $y = 0.188x + 13.205$ con un bajo $R^2 = 0.1727$. Se encontró un valor de índice del vecino más cercano de 0.3588.

Hubo un grado significativo de agrupamiento de los pulgones tal como se muestra en la Figura 5.8. El valor Z estándar resultó 0.1017. De acuerdo con la tabla de probabilidades normales estándar, Z es ± 1.96 al 95% de probabilidad, por lo tanto, se concluye que existe la seguridad de que la distribución no está distribuida aleatoriamente.

Cuadro 5.1. Resultados de coordenadas del pulgón amarillo y distancia del vecino más cercano por ImageJ.

Pulgón	X (mm)	Y (mm)	Distancia del vecino más cercano (mm)
240	98.29081	32.24388	2.570
241	98.78023	30.95642	3.833
242	99.03204	17.71305	1.939
243	99.43868	32.2706	3.201
244	100.29641	31.44812	2.570
245	100.48577	27.34116	2.940
246	100.87134	19.29828	3.877
247	101.18721	28.05786	3.463
248	101.89476	18.2911	4.202
249	102.33518	19.35773	2.985
250	102.43152	28.07966	3.463
251	102.77052	30.20447	3.201
252	103.17276	31.18059	5.880
253	102.83707	26.73656	2.462
254	103.54798	18.66132	3.201
255	103.54480	28.55757	2.309
256	103.26648	29.37265	1.046
257	103.53757	27.48044	2.309
258	103.89866	29.71856	1.569
259	104.22072	28.89553	1.569
260	104.72922	30.06322	3.310
261	105.06419	19.66839	1.786
262	105.44759	28.90831	2.417
263	105.76390	19.52461	2.200
264	105.94282	18.33927	2.047
265	106.40354	19.30543	1.416
266	106.97608	18.52713	2.940
267	107.11921	19.99726	2.570

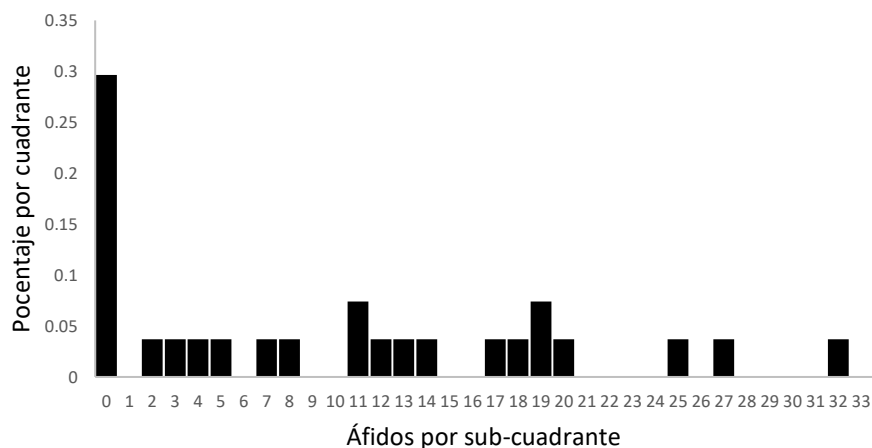


Figura 5.7. Número de pulgones amarillos por cada 4 cm² sub-cuadrante.

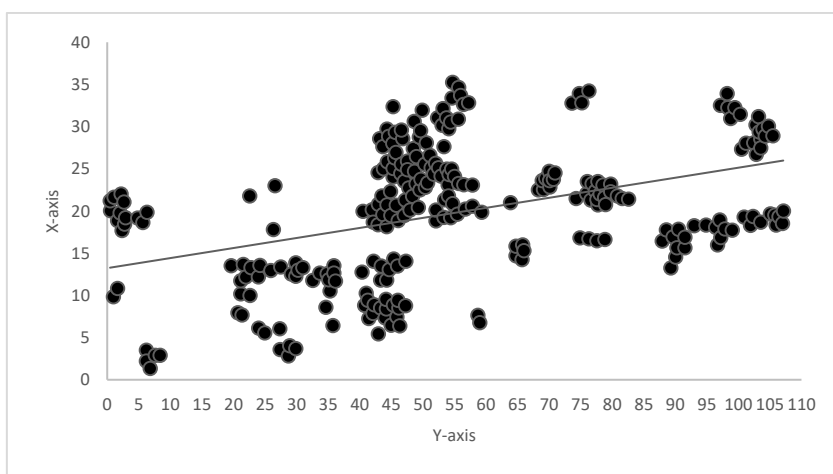


Figura 5.8. Centroide del pulgón amarillo.

Los fitomejoradores están buscando variedades de sorgo de grano y forraje tolerantes a pulgón amarillo. Armstrong *et al.* (2015), evaluaron las plantas huésped gramíneas, para determinar su idoneidad como hospedadores, y para detectar la resistencia de la planta huésped al pulgón amarillo, incluidas las fuentes conocidas que se utilizan para diferenciar biotipos de insectos verdes. Descubrieron que RTx2783 es una buena fuente de resistencia al áfido de la caña de azúcar. Mbulwe *et al.* (2016), encontraron

que A / BTx3408 y A / BTx3409 proporcionan a la industria de la plantación de sorgo nuevas fuentes de tolerancia a pulgón amarillo, que es una nueva y devastadora plaga de sorgo. También se han realizado estudios sobre resistencia de plantas tradicionales para determinar tolerancia, antibiosis y antixenosis en genotipos de sorgo cuando se propagan con pulgón amarillo y se ha encontrado que las formas de resistencia expresadas de algunas líneas tienen un gran potencial en programas de mejoramiento que pueden integrarse a programas de sorgos resistentes, Armstrong *et al.* (2016). Otros investigadores han estimado la duración del ciclo de vida de pulgón amarillo en condiciones controladas de laboratorio y encontraron que la especie requirió un promedio de dos semanas para completar su ciclo de vida, López y Fernández (1999). Por otro lado, el control de pulgón amarillo utilizando herbicida o control biológico es otra forma de controlar pulgón amarillo. Si se encuentran áfidos de pulgón amarillo en el campo, entonces es necesario comenzar a contar o estimar las densidades de áfidos, por lo tanto, nuestro sistema de conteo que usa procesamiento de imágenes para estimar pulgón amarillo y su dispersión en hojas de sorgo será una herramienta útil. Probablemente la parte más importante y laboriosa de la realización de esos estudios sería verificar que el método sea correcto y preciso (J. Scott Armstrong, comunicación personal, 30 de octubre de 2015). En este sentido, la precisión de conteo digital del sistema fue del 100% en las condiciones mencionadas anteriormente. El índice de dispersión fue 6.01, por lo tanto, la distribución espacial de pulgón amarillo está agregada o agrupada de forma aleatoria. Brewer *et al.* (2017), observar que la disminución del rendimiento del sorgo de grano los híbridos susceptibles eran más sustancial cuando el crecimiento de la población de áfidos se aceleraba rápidamente

y alcanzaba un máximo de más de 300 áfidos por hoja. Encontramos que el pulgón amarillo no se distribuye aleatoriamente en la hoja de sorgo.

5.5. Conclusiones y recomendaciones

El procesamiento digital de imágenes es una herramienta cada vez más aceptada para la detección de patógenos y enfermedades en la agricultura, debido a su alta velocidad de procesamiento es posible la cuantificación precisa de insectos en una fotografía.

Los resultados demostraron que el algoritmo creado fue capaz de agrupar y cuantificar 241 pulgones, en comparación de los 267 cuantificados por personal capacitado, dando un error de solo del 10%.

Es necesario más investigación relacionada a la correcta selección de los umbrales para una mejor clasificación de insectos.

5.6. Referencias

- Abràmoff M.D., Magalhães P.J., Ram S.J. 2004. Image processing with Image J. *Bio photonics international*, 11 (7), 36-42.
- Albukhnefis, A.L.M. 2016. Nuclei and Nucleoli Segmentation and Analysis. Doctoral dissertation. Kent State University, USA.
- Armstrong, J.S., Rooney, W.L., Peterson, G.C., Villanueva, R.T., Brewer, M.J., and Sekula-Ortiz, D. 2015. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): host range and sorghum resistance including cross-resistance from green bug sources. *Journal of economic entomology*, 108 (2), 576-582.
- Armstrong, J.S., Mbulwe, L., Sekula Ortiz, D., Villanueva, R.T., and Rooney, W.L. 2016. Resistance to *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) in Forage and Grain Sorghums. *Journal of economic entomology*, 110 (1), 259-265.
- Bowling, R.D., Brewer, M.J., Kerns, D.L., Gordy, J., Seiter, N., Elliott, N.E., Buntin, G.D., Way, M.O., Royer, T.A., Biles, S., and Maxson, E. 2016. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): A new pest on sorghum in North America. *Journal of Integrated Pest Management*, 7 (1).
- Brewer, M. 2014. Sugarcane aphid on Sorghum: Monitoring and Threshold Research Update Compilation. Texas A and M University.
- Brewer, M.J., Gordy, J.W., Kerns, D.L., Woolley, J.B., Rooney, W.L., and Bowling, R.D. 2017. Sugarcane aphid population growth, plant injury, and natural enemies on

- selected grain sorghum hybrids in Texas and Louisiana. *Journal of economic entomology*, 110 (5), 2109-2118.
- Broeke, J., Pérez, J.M.M., and Pascau, J. 2015. *Image Processing with Image J*. Packt Publishing Ltd.
- Burger, W., and Burge, M.J. 2016. *Digital image processing: an algorithmic introduction using Java*. Springer.
- CESAVEG. 2017. *Guía para el manejo del pulgón amarillo del sorgo*. (Disponible en:http://www.cesaveg.org.mx/new/manual_guia%20para_el_manejo_de_pulgon_amarillo_del_sorgo.pdf).
- Cho, J., Choi, J., Qiao, M., Ji, C.W., Kim, H.Y., Uhm, K.B., and Chon, T.S. 2007. Automatic identification of whiteflies, aphids and thrips in greenhouse based on image analysis. *Red*, 346 (246), 244.
- Cortez Mondaca, E. 2015. *Recomendaciones para el manejo del pulgón amarillo del sorgo*. Editado por Carlos R. Reyes. *Revista Panorama Agropecuario*. (<http://panorama-agro.com/?p=6917>).
- Danese, M., Lazzari, M., and Murgante, B. 2008. Kernel density estimation methods for a geostatistical approach in seismic risk analysis: The case study of potenza hilltop town (Southern Italy). In *International Conference on Computational Science and Its Applications* (pp. 415-429). Springer Berlin Heidelberg.
- Elliott, N., Brewer, M., Seiter, N., Royer, T., Bowling, R., Backoulou, G., Gordy, J., Giles, K., Lindenmayer, J., Mc Cornack, B., and Kerns, D. 2017. Sugarcane Aphid Spatial Distribution in Grain Sorghum Fields. *Southwestern Entomologist*, 42 (1), 27-35.

- Ferreira, T., and Rasband, W. 2012. Image J user guide. IJ1. 46r. Natl. Inst. Health, Bethesda, MD, USA.
- Hebert, A. 2016. Image J Batch Processing. School of Life Sciences University of Sussex. UK.
- Hinson, P. 2017. Effect of Temperature on the Development of Sugarcane Aphid, *Melanaphis sacchari*, on Sorghum (Doctoral dissertation).
- IB Geography. 2016. Nearest neighbor (<http://www.geoib.com/nearest-neighbor-index.html>).
- INIFAP. 2015. Control Químico Del Pulgón amarillo del Sorgo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Forestales.
- Flint, M.L. 1985. Integrated pest management for cole crops and lettuce. Univ. of California, Statewide Integrated Pest Mgt. Proj. Div. Agr. Natl. Res., Oakland.
- López, M. y Fernández, M. 1999. Biología y Biología de *Melanaphis sacchari* (Z) en caña de azúcar. II Ciclo de vida, curva de supervivencia y parámetros poblacionales. Revista de Protección Vegetal Vol. 14 No. 3 (1999): 155-159.
- Maharlooei, M., Sivarajan, S., Bajwa, S. G., Harmon, J. P., and Nowatzki, J. 2015. Digital Imaging Technique to Detect and Count Aphids in Soybeans, 10 pages.
- Mao, Y. 2016. Nearest Neighbor Distances Calculation with Image J. (https://icme.hpc.msstate.edu/mediawiki/index.php/Nearest_Neighbor_Distances_Calculation_with_ImageJ).

- Marín-Jarillo, A. y Herrera-Corredor, C. 2016. Enemigos Naturales Del Pulgón Amarillo Del Sorgo: Guía rápida para su identificación. INIFAP.
- Marques de Sá, J. 2007. Estimating Data Parameters. Applied Statistics Using SPSS, Statistica, Matlab and R, 81-109.
- Mbulwe, L., Peterson, G. C., Scott-Armstrong, J., and Rooney, W.L. 2016. Registration of Sorghum Germ plasm Tx3408 and Tx3409 with Tolerance to Sugarcane Aphid [(*Zehntner*)]. Journal of Plant Registrations, 10 (1), 51-56.
- Miura, K. 2016. Image J: Image Processing and Analysis in JAVA. Tsukuda Editions. 295 pages.
- Mundada, R.G., and Gohokar, V.V. 2013. Detection and classification of pests in greenhouse using image processing. IOSR Journal of Electronics and Communication Engineering, 5 (6), 57-63.
- Nagle, G., and Spencer, K. 2000. Geographical Enquiries: Skills and techniques for geography. Nelson Thornes. 128 pages.
- Newton, C. 2017. Sugarcane Aphid: A New Invasive Pest of Sorghum in Colorado Technical notes. Natural Resources Conservation Service. USDA State of Colorado, p. (1-5).
- NSPM 2014. Detection and Monitoring Techniques for Quarantine Pests. National Standards for Phytosanitary Measures. 26 pages.
- Parida, A., Kothari, S., and Vineeth, N. 2015. Real time pest detection and identification using image processing. International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering, 5 (4), 922-926.

- Rao, N. 2004. Statistics for agricultural sciences. Second Edition. BS Publications.
- SAGARPA 2014. Pulgón amarillo. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. p. 24.
- Singh, B.U., Padmaja, P.G., Seetharama, N. 2004. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (*Zehntner*) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop Protection*, 23(9): 739-755.
- Smith, T.E. 2016 Notebook on Spatial Data Analysis (<http://www.seas.upenn.edu/~ese502/>).
- Sozer, N. 2016. Imaging Technologies and Data Processing for Food Engineers. Springer. 357 pages.
- Tang, S., and Saeedkia, D. 2016. Advances in Imaging and Sensing. CRC Press. 283 pages.
- Taylor, H.M., and Karlin, S. 2014. An introduction to stochastic modeling. Academic Press. 646 pages.
- Troxler, T.G. 2016. Population Ecology: Lab 4: Population dispersion patterns. Florida International University. p7 (<http://www2.fiu.edu/~troxlert/PCB3043L/manual/04-Dispersion.pdf>).
- Vidakovic, B. 2011. Statistics for bioengineering sciences: with MATLAB and WinBUGS support. Springer Science and Business Media. 761 pages.
- Villanueva, R.T., and Sekula, D. 2014. A New Pest of Sorghum: The Sugarcane Aphid. 20th Annual Rio Grande Valley Cotton and Grain Pre-Plant, Texas AandM

University, Agrilife Extension. (<http://cameron.agrilife.org/files/2014/02/New-Aphid-Pest.pdf>).

Wilkinson, D. J. (2006). Stochastic modelling for systems biology. Chapman and Hall/CRC. 363 pages.

APÉNDICES

Apéndice 1

a) Programa para controlar adquisición de la cámara PIKF F210b.

```
% Script captura de hiper cubo area total
obj=videoinput('gent1');
ciclos para generar video hypercubo
for i = 1:600
    Lambda(i)=4.2728e-005*i^2 + 0.66802*i + 327.987;
end
for k=1:600
    for i = 1:500
        imagen(i, :, 1)=A(k, :, i);

%Nota:
%imagen(alto, ancho1920, 1dim)=snapshot(PixelcorresponL.onda, :, barridos);
%imagensan(i, :, 1)=snapshot(248, :, i);

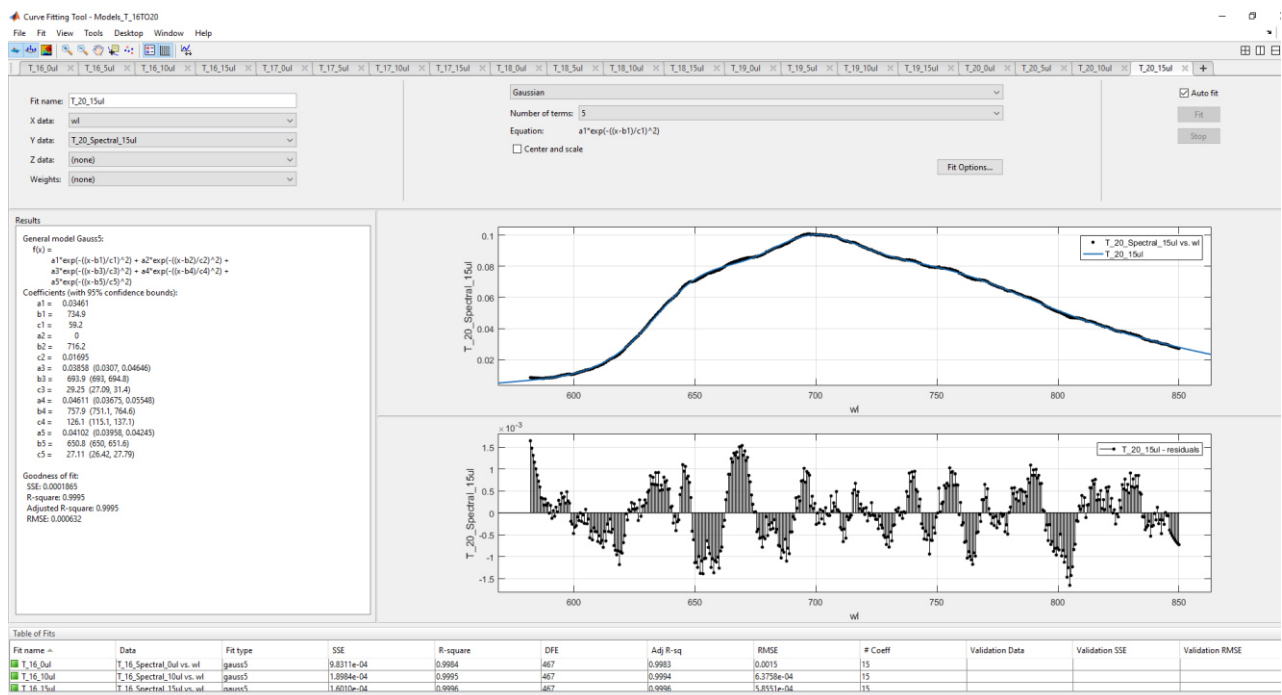
    end
    xinicial=480;
    yinicial=10;

%Si se desea recortar un ROI
%I = imcrop(imagen,[xinicial yinicial (1288-xinicial) (506-yinicial)]);

imshow(imagen(:, :, k));
title([ ' Longitud de onda: ', num2str(Lambda(k)) ])
xlabel([ ' fila: ', num2str(k) ])
pause(0.001);
end

A=tomate(:, :, :);
new=permute(A, [3 2 1]);
for i=300:600
    imshow(new(:, :, i));
    xlabel([ ' fila: ', num2str(i) ])
    pause(0.001);
end
```

b) Herramienta cftool y su interfaz gráfica.



Resultados de un total 20 firmas.

```
cftool('Models_T_1TO5.sfit');
cftool('Models_T_6TO10.sfit');
cftool('Models_T_11TO15.sfit');
cftool('Models_T_16TO20.sfit');
```

Apéndice 2

a) Programa en MATLAB para la adquisición de las imágenes hiperespectrales, así como rotar el hipercubo, y generar secuencia (video).

```
%close all
max=0;
min=254;

for i = 1:1000 % n = influye en los datos del eje x
    %reflexion(0) = snapshot(filas, posicionXimg, posicionYimg)
    reflexioncont(i)=snapshot(i,720,358);
    reflexionsan(i)=snapshot(i,1085,311);
    reflexionp1(i)=snapshot(i,745,31);
    reflexionp2(i)=snapshot(i,414,10);
    Lambda(i)=4.2728e-005*i^2 + 0.66802*i + 327.987;
    if reflexioncont(i) > max
        max= reflexioncont(i);
        pixmax=i;
    end
    if reflexioncont(i) < min
        min= reflexioncont(i);
        pixmin=i;
    end
end

% ciclos para generar video hypercubo
% for k=1:1080
%     for i = 1:600
%         imagen(i,:,1)=snapshot(k,:,i);
%     end
%     imagen(alto,ancho1920,1dim)=snapshot(PixelcorresponL.onda,:,barridos);
%     imagensan(i,:,1)=snapshot(248,:,i);
% end
%     xinicial=480;
%     yinicial=10;
%     I2 = imcrop(imagen,[xinicial yinicial (1288-xinicial) (506-yinicial)]);
%     imshow(I2);
%     title([ ' Longitud de onda: ',num2str(Lambda(k))])
%     xlabel([ ' fila: ',num2str(k)])
%     pause(0.001);
% end
%

%%
rflx1=double(reflexioncont)/255;
rflx2=double(reflexionsan)/255;
rflx3=double(reflexionp1)/255;
rflx4=double(reflexionp2)/255;
```

```

figure,plot(Lambda,rflx1,'--r',Lambda,rflx2,'--b',Lambda,rflx3,'--
g',Lambda,rflx4,'--y')
title('Spectral Signature (Firma Espectral)');
xlabel('Longitud de onda');
ylabel('%Reflexión')
legend('PixelContaminado', 'PixelSano', 'Pixel1', 'Pixel2');
%figure,plot(Lambda,reflexionsan)

for i = 1:600
    imagenREC(i,:,1)=snapshot(656,:,i);
end

figure,imshow(imagenREC);
%pixmax
%pixmin

```

b) Reconstrucción de firma de tres pixeles promediados (3 firmas del hipercubo de datos).

```

for i = 1:1000 % n = influye en los datos del eje x
    %reflexion(0) = snapshot(filas, posicionXimg, posicionYimg)
    reflexion1(i)=snapshot(i,713,359);
    reflexion2(i)=snapshot(i,907,349);
    reflexion3(i)=snapshot(i,807,408);
    Lambda(i)=4.2728e-005*i^2 + 0.66802*i + 327.987;

end

%%
rflx1=double(reflexion1)/255;
rflx2=double(reflexion2)/255;
rflx3=double(reflexion3)/255;
figure,plot(Lambda,rflx1,'--r',Lambda,rflx2,'--b',Lambda,rflx3,'--g')
axis ([ 300 1100 0 0.71]);
title('Spectral Signature (Firma Espectral)');
xlabel('Longitud de onda');
ylabel('%Reflexión')
legend('Pixel2ul', 'Pixel4ul', 'Pixel6ul');
%figure,plot(Lambda,reflexionsan)

```

Apéndice 3.

a) Programa en Arduino para control de velocidad de stepper NEMA 17.

```
#include <Stepper.h>

const int stepsPerRevolution = 200;  // change this to fit the
number of steps per revolution
// for your motor

// initialize the stepper library on pins 8 through 11:
Stepper myStepper(stepsPerRevolution, 8, 9, 10, 11);

int stepCount = 0;          // number of steps the motor has
taken
int dirStep = 1,i;
void setup() {
  // initialize the serial port:
  Serial.begin(9600);
}

void loop() {
  // step one step:
  myStepper.setSpeed(2);

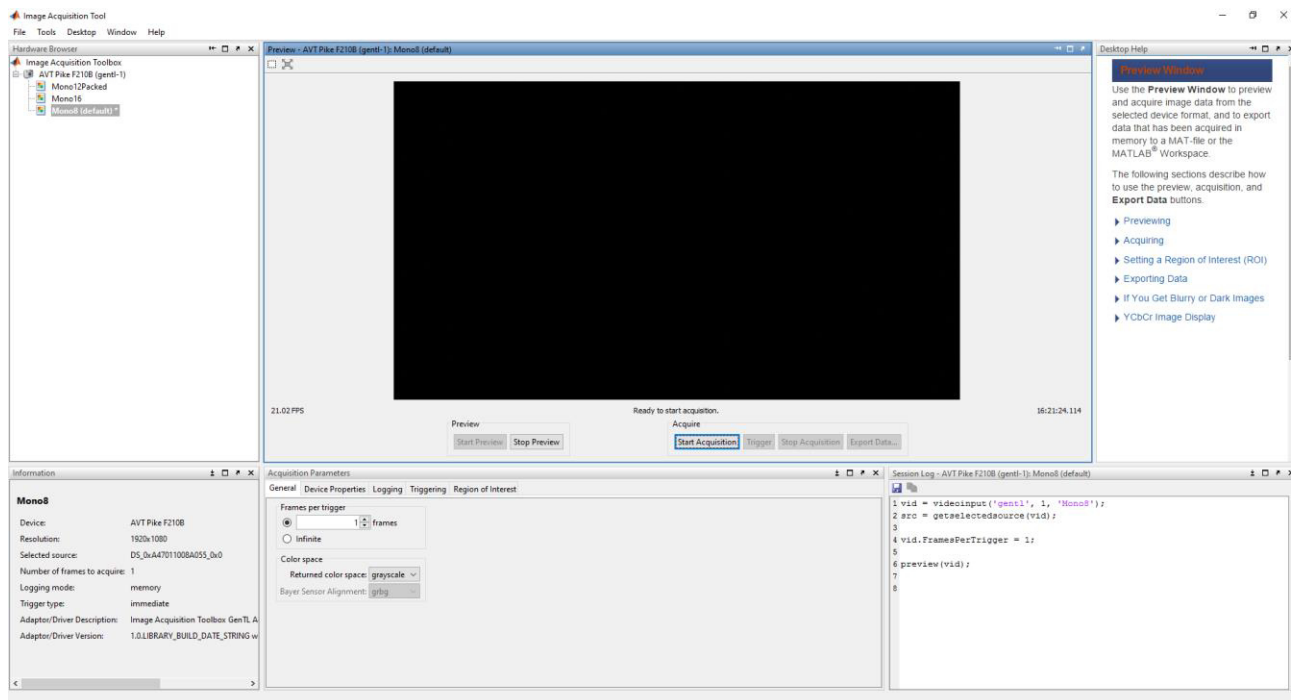
  myStepper.step(1);
  Serial.print("steps:");
  Serial.println(stepCount);

  delay(5);
}
```

b) Programa en MATLAB 2016 para visualizar hipercubo.

```
A=tomate(:,:,:);
new=permute(A,[3 2 1]);
for i=300:600
    imshow(new(:,:,i));
    xlabel([' fila: ',num2str(i)])
    pause(0.001);
end
```

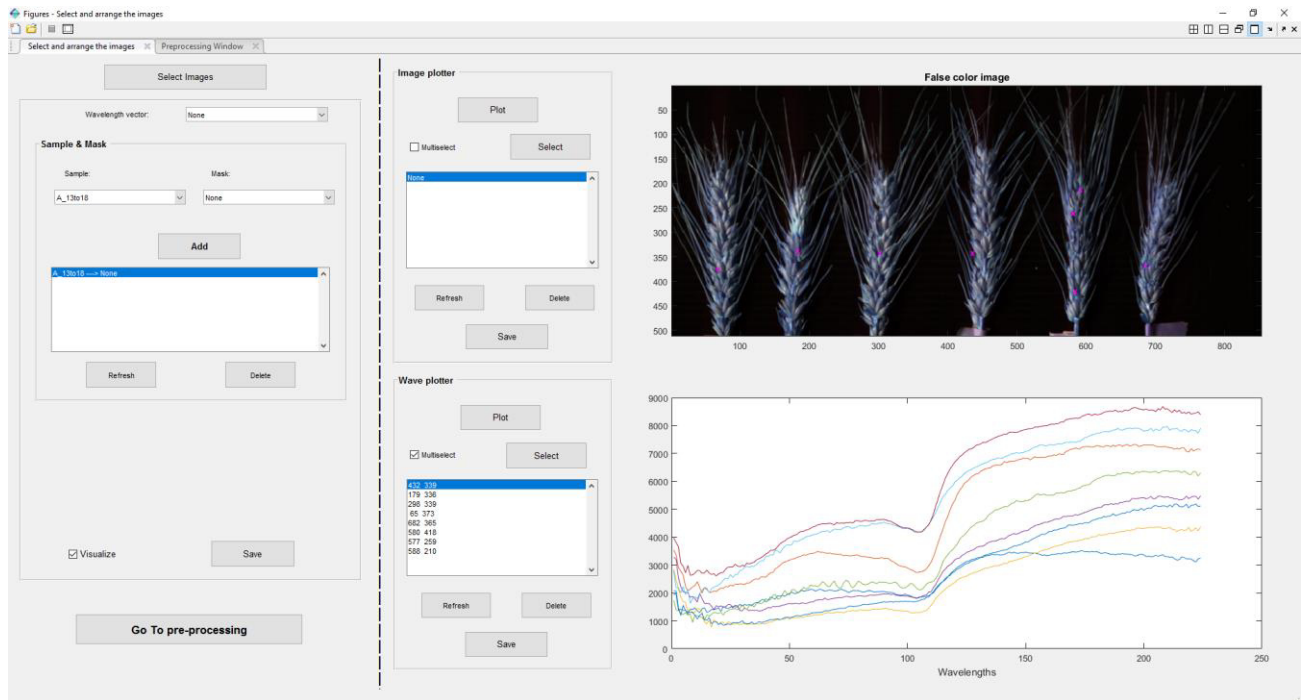
c) Herramienta imaqttool de MATLAB 2016 para la captura de las imágenes,
ROI y configuración de la cámara PIKE F210.



Apéndice 4

a) GUI Hypertools (<https://www.hypertools.org/>).





b) Código de mapeador de angulo espectral.

```
% %%SAM
figure
imagesc(A_1to6(:,:,100));

[x, y] = getpts(1);
x=round(x);
y=round(y);

r=squeeze(A_1to6(y,x,:)); %reference spectrum infected area
t=squeeze(A(152,384,:)); %test spectrum not infected area
[rowA, colB, deep] = size(A_1to6);
for row=1:rowA
    for col=1:colB
        t=squeeze(A_1to6(row,col,:));
        dotproduct=dot(t,r);
        Normat=norm(t);
        Normar=norm(r);

        Angle = dotproduct./(Normat.*Normar);
        Alfa = real(acos(Angle));
```

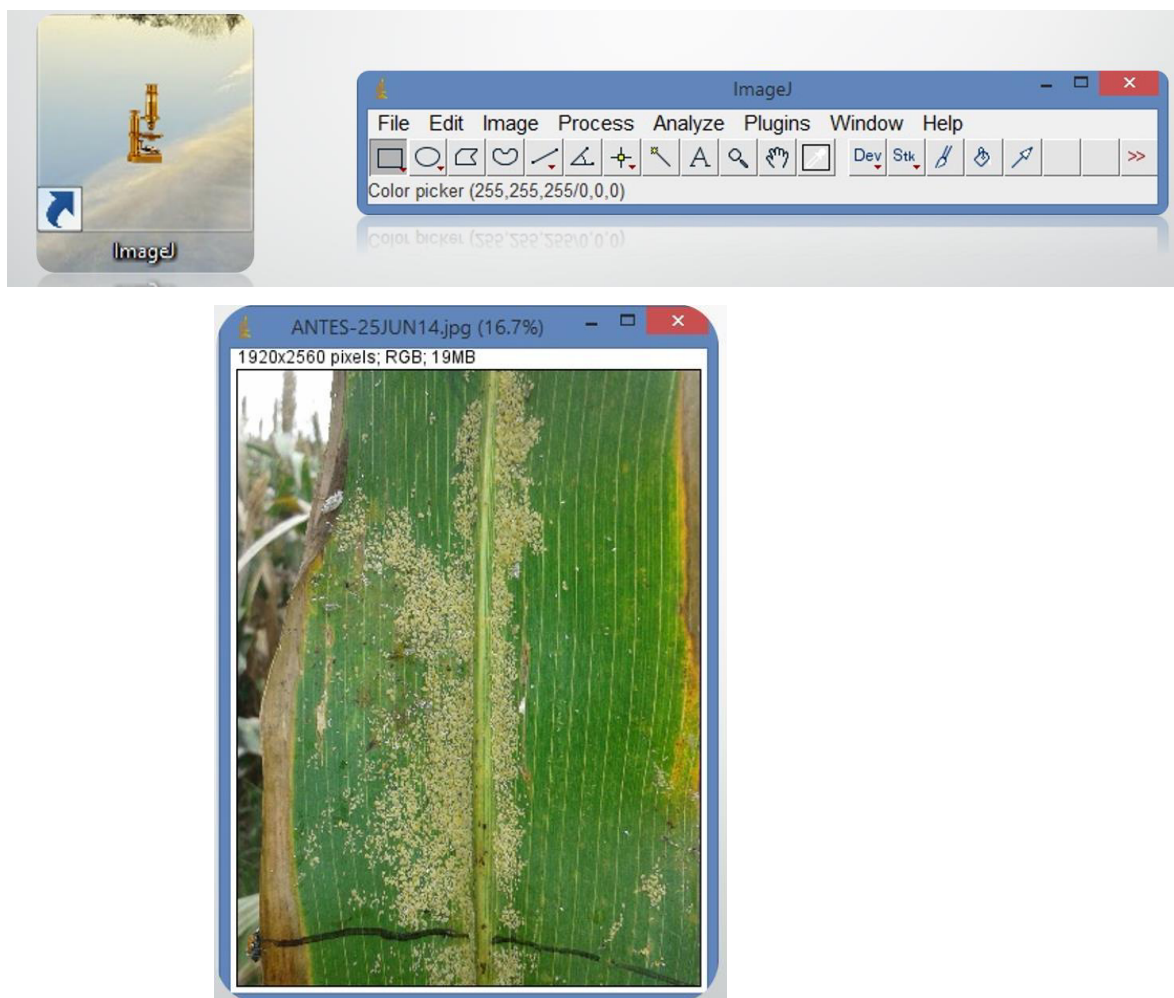
```
        if Alfa < 0.05
            Z(row,col) = 1;
        else
            Z(row,col) = 0;
        end
    end
end

imshow(Z)
```

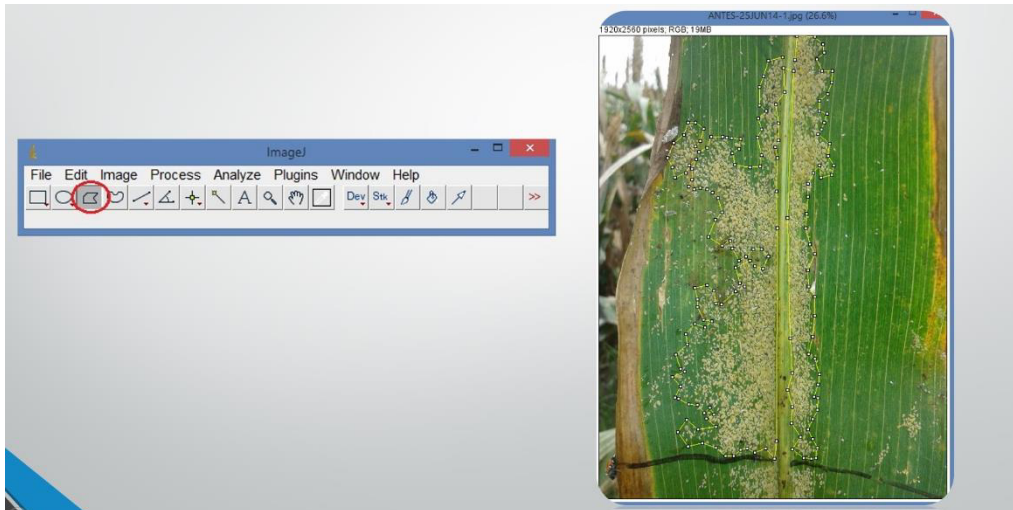
Apéndice 5.

Procesamiento de imágenes para el conteo de los pulgones amarillos del sorgo utilizando ImageJ.

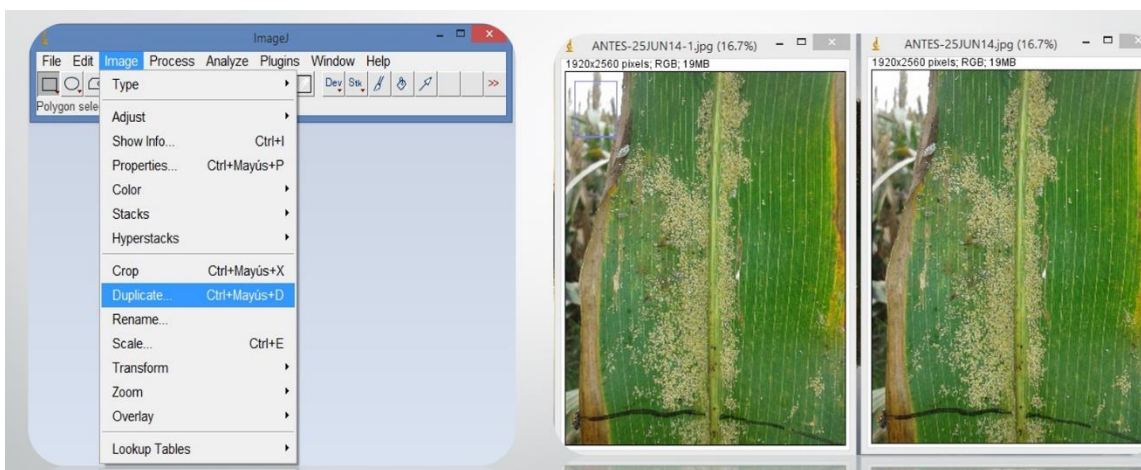
a) Abrir la imagen a ser procesada.



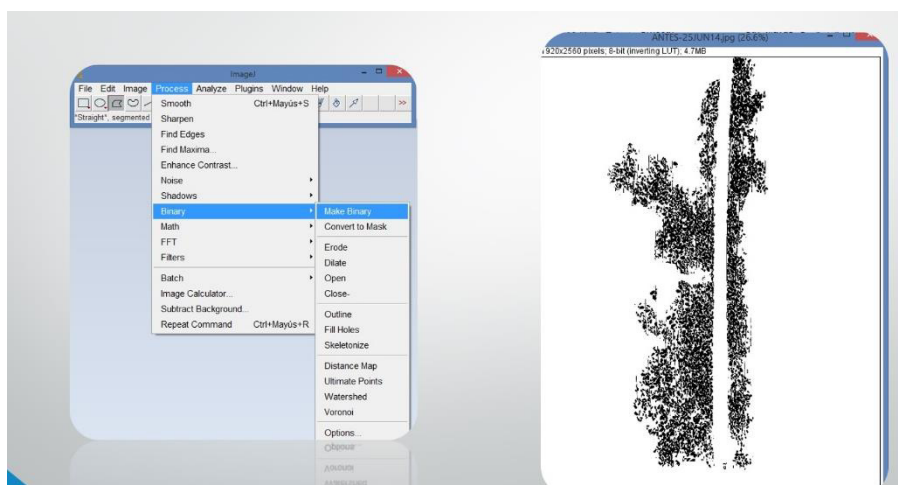
b) Selección del área de trabajo.



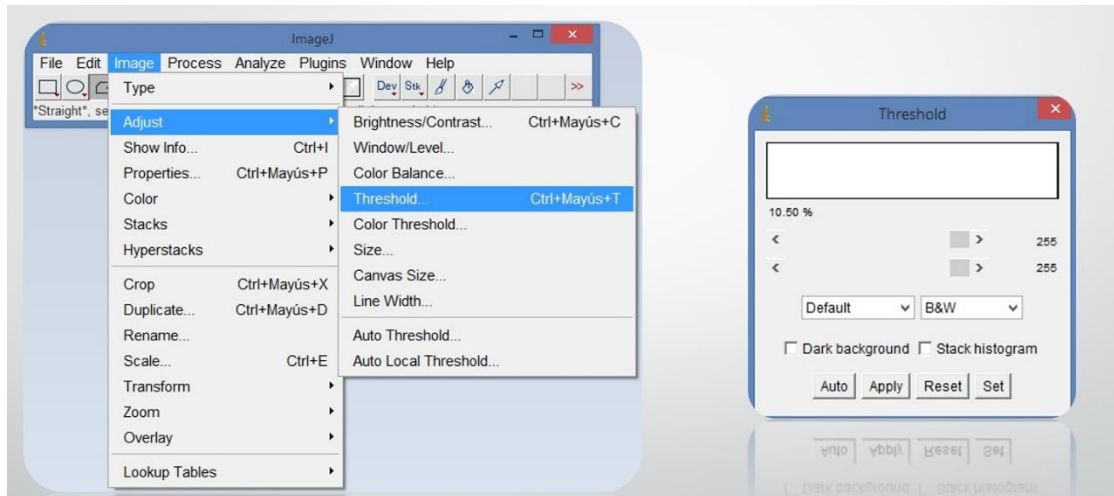
c) Duplicación de la imagen.



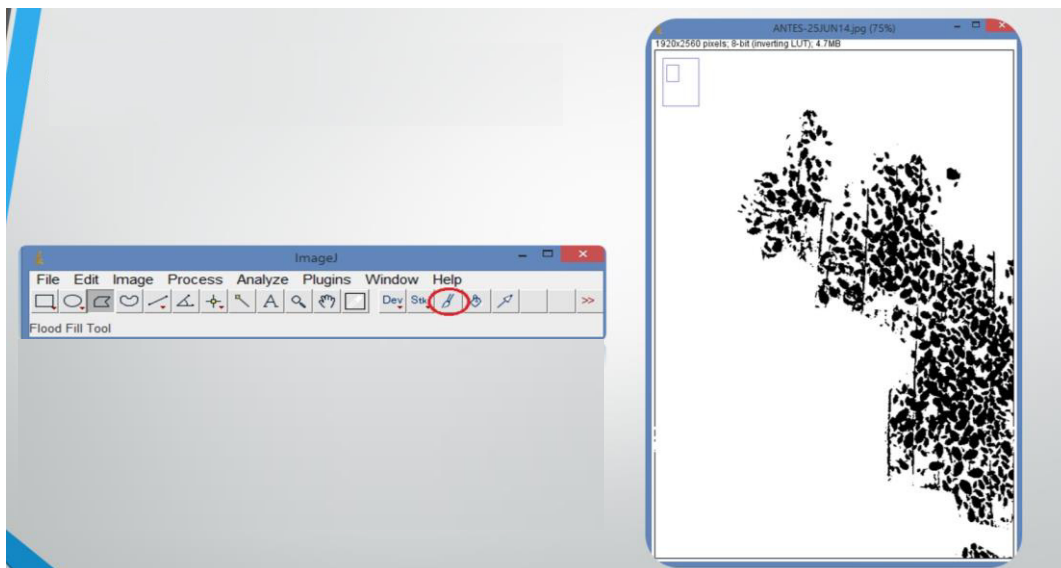
d) Binarización de la imagen.



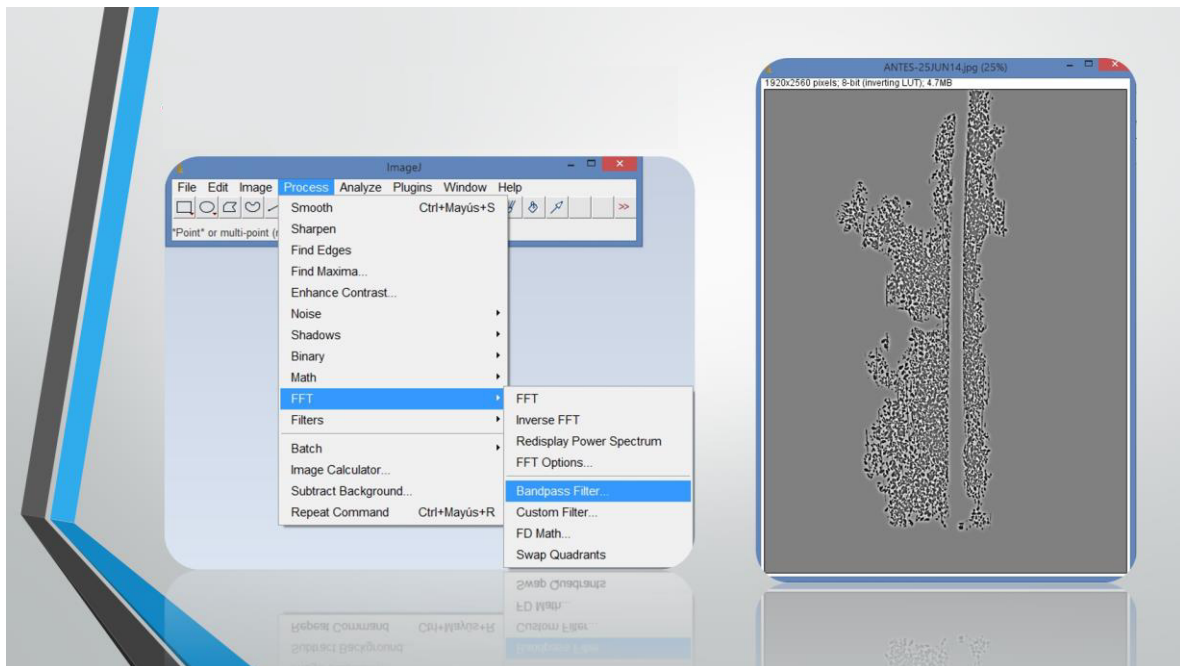
e) Ajuste y umbralización de la imagen.



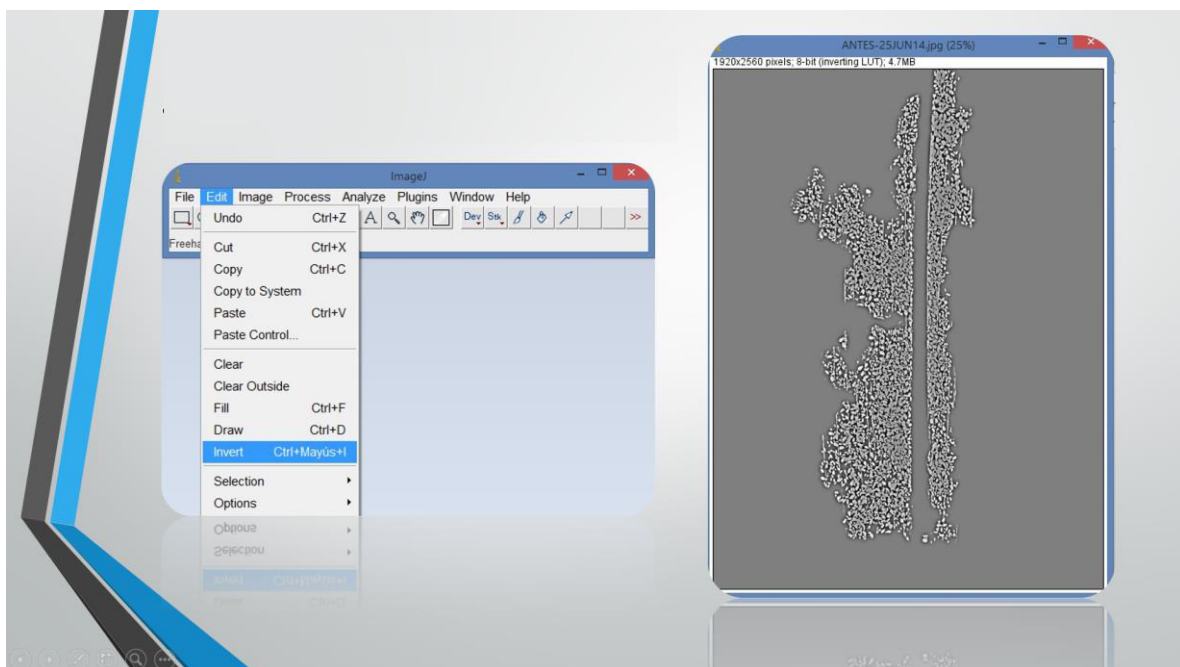
f) Herramienta paintbrush (color blanco).



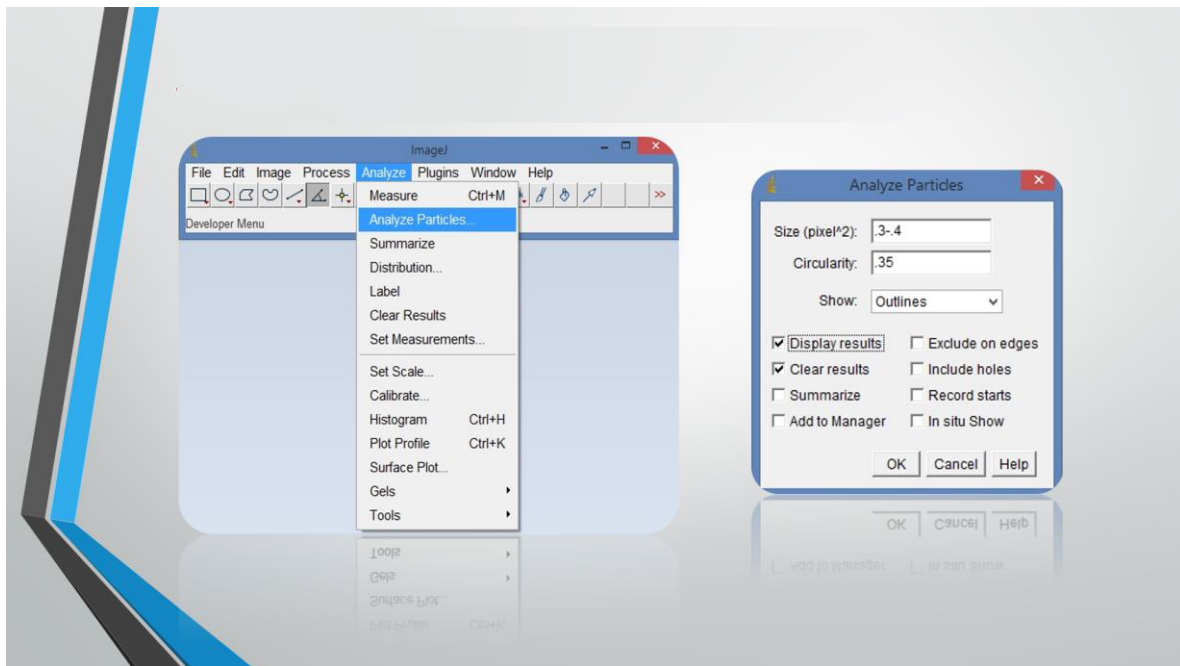
g) Transformada rápida de Fourier.



h) Inversión de la imagen anterior.



i) Análisis de áfidos.



j) Resultados.

